

THÈSES

présentées à la
FACULTÉ DE PHARMACIE

de

L'UNIVERSITÉ DE NANCY

pour obtenir
LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Doctorat d'Etat)

par

Suzanne HEINRICH

Pharmacien

Licenciée es-Sciences

Lauréate de la Faculté de Pharmacie de Nancy
Assistante, Déléguée Chef de Travaux Pratiques

née le 24 Février 1934 à Nancy (Meurthe & Moselle)

1ère. THÈSE :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'AMANDON D'OLIVE

2ème. THÈSE :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 12 Octobre 1960 devant la Commission d'Examen

Président : Mademoiselle M.-Th. FRANÇOIS,
Professeur.

Juges : Monsieur MEUNIER, Professeur.
Monsieur BERNANOSE, Professeur.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DE PHARMACIE

de

L'UNIVERSITÉ DE NANCY

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Doctorat d'Etat)

par

Suzanne HEINRICH

Pharmacien



Licenciée es-Sciences

Lauréate de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Assistante, Déléguée Chef de Travaux Pratiques

née le 24 Février 1934 à Nancy (Meurthe & Moselle)

1ère. THÈSE :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'AMANDON D'OLIVE

2ème. THÈSE :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 12 Octobre 1960 devant la Commission d'Examen.

Président : Mademoiselle M.-Th. FRANÇOIS,
Professeur.

Juges : Monsieur MEUNIER, Professeur.
Monsieur BERNANOSE, Professeur.

Depósito legal: M. 9.588-1958 (separata)

SUCESORES DE RIVADENEYRA, S. A.—PASEO DE ONÉSIMO REDONDO, 26.—MADRID

UNIVERSITÉ DE NANCY—FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

Doyen

Professeur : F. KAYSER

Assesseur

Professeur : A. MEUNIER

Secrétaire

B. SEUROT

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs

M. MEUNIER, A.
Melle. FRANÇOIS, M.-Th.
MM. KAYSER, F.
FRANQUET, R.
MARCHAL, J. G.
STEIMETZ, E.
BLOCH, J. M.
SOLEIL, J.
BERNANOSE, A.
Melle. BESSON, S.

Pharmacie galénique.
Matière Médicale.
Chimie.
Botanique.
Microbiologie.
Sciences naturelles.
Toxicologie.
Pharmacie chimique.
Physique.
Pharmacodynamie.

Maîtres de conférences

M. BENE, R. (Agrégré).
M. PIERFITTE, M. (Délégué).
M. MIRJOLET, M. (Délégué).

Microbiologie.
Chimie biologique.
Sciences physico-chimiques.

Chargés de Cours complémentaires

M. MEUNIER, A.
Melle. FRANÇOIS, M.-Th.
MM. KAYSER, F.
FRANQUET, R.
MARCHAL, J. G.
STEIMETZ, E.
BLOCH, J. M.
SOLEIL, J.
BERNANOSE, A.
GRANGER (Professeur à la Faculté de Droit).
Melle. BESSON, S.

M. BENE, R.
M. ANZIANI, P.
Mme. LASSEUR, A.

MM. MIRJOLET, M.
PIERFITTE, M.

Hydrologie.
Hygiène.
Biochimie technique.
Cryptogamie.
Parasitologie.
Mycologie-Minéralogie.
Chimie minérale.
Chimie organique.
Optique et acoustique.
Déontologie.
Techniques spéciales et méthodes modernes d'analyses.
Bactériologie.
Caractères analytiques des sels.
Techniques spéciales d'analyses bactériologiques.
Chimie analytique.
C. E. S. Chimie biologique.

Chefs de travaux

M. ANZIANI, P.
Mme. LASSEUR, A.
MM. VILLOUTREIX, J.
MARTIN, J. A. (Délégué).
Melle. GIRARD, Th. (Déléguée).
Melle. LAURENT, F. (Déléguée).
Melle. DAUCHY, S. (Déléguée).
Melle. HEINRICH, S. (Déléguée)

Chimie.
Microbiologie-Parasitologie.
Micrographie.
Chimie.
Microbiologie technique.
Physique.
Chimie biologique.
Sciences pharmaceutiques.

Doyen honoraire :

M. RICHARD, Recteur de l'Académie de Montpellier.

Professeurs honoraires :

M. CORDEBARD - M. DOURIS

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver, ni les imputer.

«C'est le travailleur solitaire qui découvre un sujet nouveau, mais plus le monde devient compliqué, moins nous sommes capables de conduire quoi que ce soit jusqu'au succès sans la collaboration des autres.»

SIR ALEXANDER FLEMING.

A MES PARENTS

*en témoignage d'affectueuse
reconnaissance.*

A MES SOEURS

A TOUS LES MIENS

A notre président de thèse

Mademoiselle MARIE-THERESE FRANÇOIS

Professeur de Matière Médicale

*En témoignage de notre profonde
gratitude et de toute notre affection.*

A NOS JUGES

Monsieur MEUNIER

Professeur de Pharmacie Galénique

Monsieur BERNANOSE

Professeur de Physique

A TOUS NOS MAÎTRES

de la Faculté de Pharmacie et de la
Faculté des Sciences de Nancy

Hommage respectueux et reconnaissant

AVANT-PROPOS

Le couronnement des études secondaires est, pour certains, l'objectif qui doit terminer l'astreinte de la scolarité, et bien des lycéens l'attendent comme une libération. En peut-il être ainsi lorsque l'atmosphère familiale et l'affection paternelle vous ont guidé dans les sentiers, parfois ardues des études classiques? Je dois à mes professeurs du Lycée Jeanne d'Arc cette initiation au grec et au latin qui oblige l'esprit à une analyse rigoureuse et le conduit tout naturellement à la méthode nécessaire pour aborder les sciences exactes. C'est avec une profonde affection que j'associe mes parents et mes professeurs pour leur exprimer toute la reconnaissance que je leur dois pour la formation qu'ils ont su me donner et qui m'a conduite devant vous aujourd'hui.

En abordant le stage en Pharmacie, j'ai eu le grand honneur d'être admise par Monsieur COULET dans son officine. C'est sous sa paternelle, mais ferme direction, que j'ai pris mes premiers contacts avec la Profession et que j'ai préparé mon entrée à la Faculté. A lui aussi vont tous mes sentiments de gratitude.

Rien ne me faisait alors imaginer que mon ambition ne se limiterait pas à la conquête du diplôme de Pharmacien. L'attrait des sciences physiques et des sciences naturelles m'a amenée peu à peu, dès ma seconde année, à participer à la vie du Laboratoire de Matière Médicale et à y consacrer une partie du temps libre dont je disposais. Mon orientation s'est ensuite précisée et, les circonstances aidant, la préparation d'une licence de la Faculté des Sciences, puis d'un travail de recherches pour obtenir le Doctorat d'Etat, a représenté la voie naturelle dans laquelle je me suis trouvée engagée.

Je remercie Monsieur le Doyen KAYSER de m'avoir toujours témoigné un bienveillant intérêt et de m'avoir fait proposer à l'agrément du Conseil de la Faculté pour le poste d'Assistant des Travaux Pratiques de Chimie Analytique dont le traitement a assuré mon existence matérielle au cours de ces dernières années.

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur BLOCH qui m'a accueillie très cordialement dans son service. Monsieur ANZIANI m'a toujours prodigué paternellement ses conseils et ses encouragements. Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de ma profonde et respectueuse gratitude.

Durant les sept années que j'ai passées au Laboratoire de Matière Médicale, j'ai pu apprécier la sollicitude et la haute compétence de Mademoiselle M.-Th. FRANÇOIS. Je lui dois d'avoir inspiré ce travail et de m'avoir permis de le mener à bien par ses conseils éclairés. Je lui exprime une nouvelle fois toute mon affectueuse reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à mes juges, à Monsieur le Professeur MEUNIER, toujours dévoué à ma cause et à Monsieur le Professeur BERNANOSE, auquel j'associe Madame BERNANOSE. Je n'oublie pas, en effet, qu'elle fut au Lycée mon premier professeur de physique et de chimie.

Ce travail a pu être accompli grâce à l'amabilité de Monsieur BUCHMAN, Directeur du Domaine d'ENFIDA, qui a confié au Laboratoire la matière première nécessaire. Nous avons pu gagner un temps précieux en utilisant les amandons débarrassés de leur coque qu'il a pris la peine de nous procurer, alors que la méthode de séparation du bois et de l'amande n'était pas encore parfaitement au point. Nous exprimons à Monsieur BUCHMAN nos très sincères remerciements.

Je n'aurai garde d'oublier ce que je dois à mes camarades qui ont su créer l'atmosphère agréable du Laboratoire de Matière Médicale. Je remercie, tout particulièrement, Jean PELT, dont le dynamisme et la bonne humeur ont largement contribué à la mise en route de ce travail. J'exprime également ma reconnaissance à Mademoiselle Y. ERHART et à Monsieur Paul BIEGEL, dont l'aide m'a été particulièrement précieuse.

INTRODUCTION

L'olivier est cultivé sur les bords de la Méditerranée depuis la plus haute antiquité. L'huile extraite de ses fruits par trituration et pressurage de la pâte obtenue est, en effet, tout particulièrement appréciée et les anciens accordaient déjà un grand soin à sa préparation. Les auteurs latins nous ont laissé, à ce sujet, de précieux renseignements et nous ont décrit les précautions prises pour améliorer la qualité de l'huile. C'est ainsi que, jusqu'à la fin du XIX^e siècle, on a admis sans preuve réelle que, si l'on évite de briser le noyau au cours du malaxage, puis de la pression des olives, l'huile obtenue est plus goûtée et se conserve mieux (73-79-3-29).

CATON décrit ainsi les meules utilisées pour le triturage: elles déchirent la chair sans la broyer et ménagent le noyau qui communique un mauvais goût à l'huile. "*Neque nucleis ad oleum ne utatur, nam si utetur, male sapiet*" (chap. 66). On conseillait, en conséquence, jusqu'au début du siècle, de séparer une huile de première pression ménagée, exclusivement extraite du mésocarpe du fruit, d'une huile de seconde pression, constituée par un mélange d'huile de mésocarpe et d'huile d'amande.

L'amélioration de la puissance des appareils mécaniques et la recherche de l'augmentation des rendements ont aboli cette distinction et les huiles d'olive commerciales ont correspondu, par la suite, à des huiles totales, qu'elles soient de pression unique, de première ou de seconde pression. Les olives, préalablement lavées, sont broyées à la meule puis introduites dans des scourtins, sortes de sacs de fibres grossières ou d'alfa, qu'on empile les uns sur les autres et qu'on soumet à une pression lente et modérée; il s'en écoule un mélange d'eau et d'huile que l'on abandonne à la décantation ou que l'on centrifuge. On obtient ainsi l'huile vierge rigoureusement préparée à froid. Les scourtins sont ensuite vidés et la pâte d'olive est, de nouveau, broyée, puis arrosée d'eau tiède avant d'être pressée une deuxième fois. Cette huile de 2^{ème} pression est utilisée, elle aussi, pour l'alimentation. Les tourteaux ou grignons sont alors abandonnés en tas dans les cours des huileries, puis acheminés vers des usines spécialisées

où l'huile résiduelle sera extraite par solvant, le plus souvent par le sulfure de carbone, d'où le nom de "Sulfureurs" donné aux spécialistes de cette extraction. A l'heure actuelle, on tend à utiliser surtout le trichlorethylène, solvant chloré ininflammable dont l'usage a été rendu obligatoire en Espagne.

Cette méthode est toujours utilisée dans les huileries modernes; elle présente pourtant deux inconvénients majeurs: elle exige une main d'oeuvre importante pour la manipulation des scourtins, ceux-ci sont, d'autre part, difficiles à nettoyer et il n'est pas rare d'y trouver des restes de pâte d'olive provenant de la récolte antérieure qui, du fait de leur altération, communiquent un mauvais goût à l'huile et en augmentent l'acidité.

La construction de superpresses où les scourtins sont remplacés par des disques de fibres filtrants a quelque peu amélioré les conditions de la pression: par suite de l'augmentation du rythme de pressage de la pâte, les jus restent moins longtemps au contact des matières incluses dans le réseau fibreux (78). Des essais ont également été tentés avec succès pour remplacer les scourtins fibreux par des scourtins métalliques (55). Des disques formés par l'enroulement à spires jointives d'un fil d'acier trempé sont intercalés entre les disques de fibres. On diminue ainsi le nombre de scourtins fibreux et, en même temps, l'acidité de l'huile, puisque l'on a pu montrer que celle-ci est directement proportionnelle au rapport

$$\frac{\text{poids de scourtins fibreux}}{\text{poids de pâte}}$$

Le souci d'obtention d'huiles de haute valeur en même temps que de rendements élevés, a amené quelques industriels à remplacer la pression par des procédés physiques d'extraction. Trois méthodes sont surtout connues:

1.° LE PROCÉDE ACAPULCO.

Mis au point au début de ce siècle, le procédé ACAPULCO exploite les différences de tension superficielle existant entre l'eau et l'huile de la pâte d'olive (8). Au cours d'un malaxage prolongé, dans certaines conditions de température et d'humidité, les parois des cellules retiennent plus facilement l'eau que l'huile qui se rassemble en globules et s'écoule à travers une toile filtrante. Bien qu'expérimentée de nouveau, au cours de la campagne 1954-55 (30), cette méthode n'est qu'exceptionnellement utilisée à l'heure actuelle.

2.° L'EXTRACTION PAR ELECTROPHORESE (81).

De date beaucoup plus récente, l'extraction par électrophorèse n'est pas encore en usage dans l'industrie.

Lorsqu'on dilue la pâte dénoyautée avec de l'eau, il se forme une émulsion très difficile à rompre par des moyens mécaniques. La différence de tension superficielle entre l'eau et l'huile est, en effet, diminuée par la pré-

sence d'agents émulsifiants provenant du protoplasme des cellules oléifères (albumines, protéines, matières pectiques). Ces substances peuvent être éliminées par électrophorèse et électroosmose, l'émulsion se séparant ensuite en chacune de ses phases.

En soumettant le mélange à l'action d'un champ électrique, l'émulsifiant qui a une charge négative correspondant à son groupement hydrophile, migre vers l'anode en libérant l'huile à laquelle il était lié par ses liaisons hydrophobes. Les mucilages chargés positivement émigrent, au contraire, vers la cathode. En perdant leurs charges électriques respectives, les colloïdes se rapprochent de leur point isoélectrique correspondant à un pH déterminé du milieu, et à ce stade précipitent en flocons. La différence de tension superficielle de l'eau et de l'huile étant rétablie, les liquides se séparent, et l'huile remonte à la surface du bain.

3.° LE PROCÉDE WESTFALIA - ENFIDA.

La troisième méthode physique d'extraction de l'huile d'olive tend, au contraire, à prendre un développement considérable puisque, sous l'impulsion de Monsieur BUCHMANN, elle est utilisée au Domaine de l'ENFIDA (Tunisie) depuis la campagne 1956-57 et depuis lors dans la région de Fez. C'est le procédé WESTFALIA-ENFIDA (17-18). Il consiste à rompre l'émulsion de la pâte d'olive par l'adjonction d'un électrolyte (chlorure de sodium) et l'application de procédés mécaniques (malaxage et centrifugation). La chaîne de fabrication continue permet de traiter 40 tonnes d'olives par jour. Les différents stades en sont les suivants :

1.—Lavage des olives.

2.—Dénoyautage. Le dénoyateur est un cylindre à l'intérieur duquel tourne un arbre en acier portant deux pales disposées de telle façon que les noyaux ne soient pas brisés. Le mésocarpe passe à travers les perforations, tandis que les noyaux sont évacués à l'extrémité du cylindre, lavés, puis séchés avant d'être stockés.

3.—Broyage du mésocarpe dans un broyeur à marteaux.

4.—Salage et malaxage de la pâte. La pâte d'olives est additionnée de 5 % de chlorure de sodium, puis le mélange est malaxé pendant 2 heures environ dans une cuve où tournent, en sens inverse, deux arbres parallèles munis de pales. La cuve est entourée d'une double enveloppe où circule de l'eau tiède. Au cours de ce malaxage, les globules d'huile sont libérés des cellules et tendent à se rassembler.

5.—Dilution de la pâte, tamisage et centrifugation.

Après adjonction d'une quantité d'eau calculée, le jus obtenu est tamisé, puis centrifugé dans un séparateur adéquat (centrifugeuse Westfalia). L'huile vierge s'écoule en continu et tombe directement dans une fosse où elle est stockée.

Les avantages de cette méthode d'extraction sont multiples :

1.—Réduction de la main-d'oeuvre et du prix de fabrication.

2.—Augmentation du rendement en huile vierge de 6 à 8 %.

3.—Obtention d'une huile d'acidité moindre par suite de la suppression des scourtins.

4.—Valorisation des tourteaux qui, après avoir été mélangés avec du son ou des farines pour absorber leur humidité, peuvent être utilisés en toute sécurité pour l'alimentation du bétail, puisqu'ils ne contiennent plus de brisures de noyaux.

Une autre conséquence directe de l'utilisation de ce procédé est la production de noyaux qui constituent désormais un sous-produit de l'huilerie assez important puisque sur 100 kg d'olives traitées, on obtient 17 à 28 kg de noyaux frais, soit 14 à 25 kg après séchage.

La poudre de coques de noyaux est bien connue puisqu'elle sert à falsifier les poivres auxquels elle ressemble par ses cellules scléreuses. En dehors de cet emploi peu recommandable, on l'utilise en panification comme fleurage. Elle peut également servir à la fabrication du furfural.

L'étude de l'amandon est beaucoup plus intéressante tant sur le plan théorique que sur le plan de valorisation d'un procédé de plus en plus utilisé. Elle fera l'objet de notre travail.

Dans une première partie assez courte, une description de l'olive et de son noyau sera suivie d'une brève étude botanique de l'amandon.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude de l'huile que l'on peut en extraire en proportion importante: après en avoir défini les caractères et la composition, nous déterminerons les conditions de préparation de l'huile d'amandon les plus favorables; nous examinerons ainsi successivement la matière première utilisée et le mode l'extraction de l'huile. Nous la comparerons enfin aux huiles d'amande et de noyau officinales.

L'étude des tourteaux fera l'objet de la troisième partie de notre travail. La composition globale des tourteaux extraits par différents procédés sera tout d'abord fixée, puis l'examen des glucides et des protides sera plus particulièrement développé.

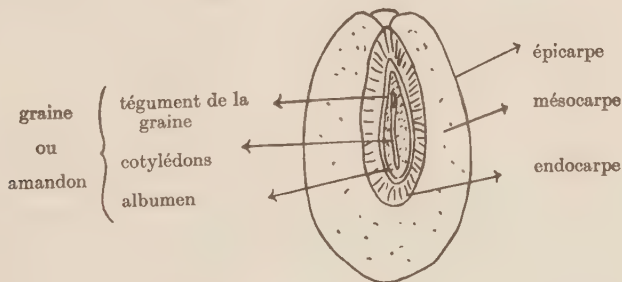
PREMIÈRE PARTIE

ORIGINE ET DESCRIPTION DE L'AMANDON D'OLIVE

L'olivier, *Olea europaea* L., de la famille des Oléacées, est originaire de l'Asie mineure. On cultive actuellement ses très nombreuses variétés sur tout le pourtour du bassin méditerranéen, en Espagne, en Italie, en Grèce, en Israël, en Turquie, en Provence, enfin, en Tunisie qui doit à l'occupation française le renouveau des anciennes oliveraies romaines disparues depuis la conquête arabe. Depuis une quarantaine d'années, les efforts de l'Office de l'huile de Tunisie, des techniciens des services agronomiques, du génie rural, et des spécialistes des grands domaines, notamment ceux d'Enfidaville, ont beaucoup contribué à l'amélioration des conditions de la culture de l'olivier et de l'extraction de l'huile.

L'olivier, dont la longévité est remarquable, est un arbre de port caractéristique, au tronc noueux, aux feuilles lancéolées, coriaces, d'un gris cendré. Son fruit est une drupe subglobuleuse, verte, puis teintée de pourpre noirâtre à maturité, en fin d'automne. Suivant les variétés, l'olive a une forme plus ou moins ovale, pointue à ses extrémités. Elle mesure 1 à 3 cm. de long et 12 à 15 mm. de large.

Structure de l'olive.



La coupe d'une olive montre plusieurs parties :

1.—Un épicarpe mince, lisse, constitué de cellules polygonales à membrane épaissie.

2.—Un mésocarpe charnu et huileux, formé d'un parenchyme lacuneux au milieu duquel sont inclus de longs sclérites ramifiés, fortement lignifiés et d'aspect caractéristique (50). C'est la pulpe d'olive.

3.—Un endocarpe ligneux et très dur, formant la paroi du noyau, de 1 à 3 mm. d'épaisseur, et constitué exclusivement de sclérites à parois

épaisses, à cavité souvent oblitérée et à contours très irréguliers (68-22).

Sclérites de l'endocarpe:



4.—A l'intérieur du noyau, on trouve généralement, en raison de phénomène d'avortement, une seule graine suspendue, albuminée, à radicule supérieure et à deux cotylédons.

Les proportions respectives du mésocarpe, de l'endocarpe et de l'amande dépendent des variétés. Les valeurs moyennes calculées sur des olives fraîches sont les suivantes:

mésocarpe	71,5 à 80,5 %
endocarpe (bois)	17,3 à 23 %
amande	2 à 5,5 %

Description du noyau.

Le noyau est très dur, allongé, pointu aux deux extrémités, parfois légèrement arqué, grossièrement ridé. Jaunâtre ou de teinte grisâtre, il mesure 8 à 14 mm. de long, 4 à 5 de large. Il représente sur le frais le quart ou le cinquième du poids de la drupe.

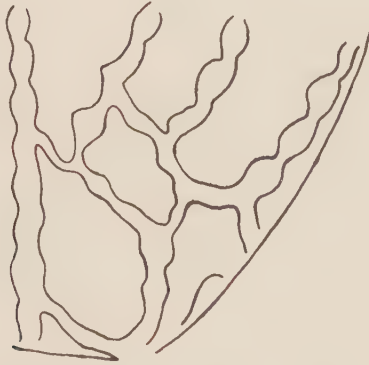
Description de la graine.

La graine, ou amandon d'olive, mesure 9 à 11 mm. de long, elle est allongée et aplatie dans le sens de la longueur. De couleur brun-jaune, elle est veinée de brun plus foncé. Il faut, en moyenne 3.500 amandes pour 100 g.



L'amandon d'olive est entouré d'un seul tégument constitué de deux couches bien distinctes :

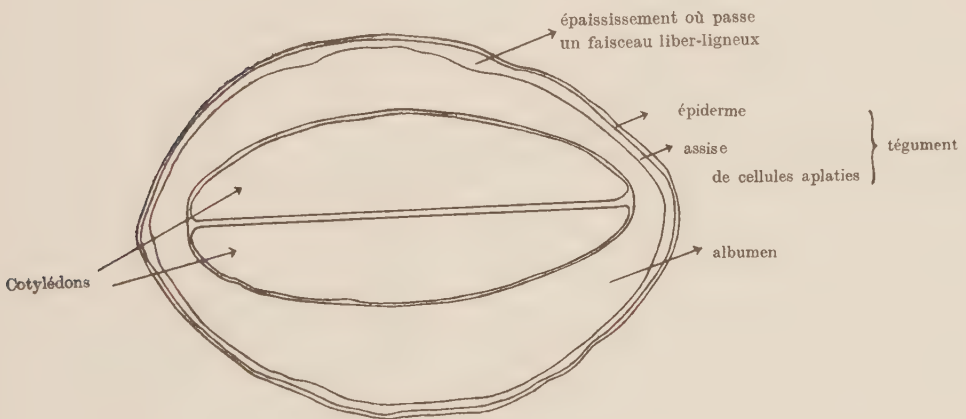
1.—Un épiderme, assise de cellules polygonales, irrégulières, colorées en jaune pâle, à parois très épaisses et bosselées qui leur donnent un aspect caractéristique.

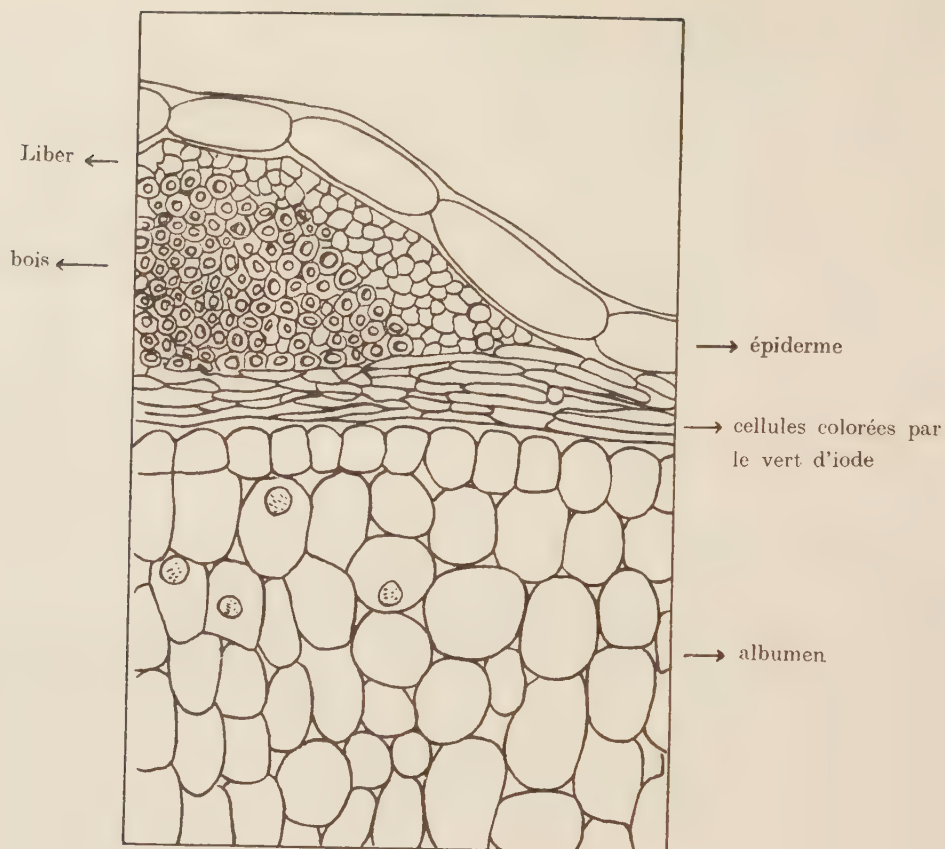


2.—Une couche constituée de plusieurs assises de cellules comprimées, se colorant par le vert d'iode, et chargées de corpuscules gras et de cristaux en aiguille d'oxalate de calcium. Dans cette assise, courent les faisceaux libero-ligneux correspondant aux nervures plus foncées de l'amande.

L'albumen est abondant : cellules polygonales à parois minces, en files radiales, riches en aleurone et en matières grasses. Les parois externes des cellules en contact avec le tégument sont épaissies.

COUPE TRANSVERSALE AU NIVEAU DES COTYLÉDONS.





SECONDE PARTIE

L'HUILE D'AMANDON D'OLIVE

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE & METHODES D'ANALYSE UTILISEES

1. BIBLIOGRAPHIE.

L'huile d'amandon d'olive a été fort peu étudiée jusqu'à présent, bien que l'on ait signalé sa présence depuis longtemps. En 1900, P. D'AYGALLIERS nous enseigne que "l'huile de l'amande est jaunâtre, limpide, ne forme pas de dépôt" (29). On lit aussi dans le manuel de Pharmacie Galénique de GORIS et LIOT (39), qu'il y a dans l'amande de l'olive 25 % d'une huile riche en acides libres (jusqu'à 10 %), de saveur fade, d'odeur désagréable et rancissant très vite. Tous les auteurs ne sont pourtant pas aussi sévères, on trouve ailleurs, en effet, que cette huile a un goût doux et agréable qui manque au goût de la pulpe (42).

Les renseignements fournis par la littérature se rapportent, soit à des huiles extraites des noyaux d'olive entiers, soit à des huiles d'amandon proprement dites, extraites des amandes isolées. Les auteurs semblent confondre ces deux huiles et ils les désignent sous le nom général d'"huiles de noyau d'olive".

En 1912, TSCHIRCH (83) signale qu'une huile de noyau d'olive extraite par pression contient 10 % d'acides concrets, l'amande elle-même fournissant 35,6 % d'huile.

En 1933, KANDILIS et KARNIS, étudiant des huiles d'origine grecque, donnent les caractéristiques suivantes pour les huiles extraites au laboratoire par le sulfure de carbone (51) :

Densité à 20°.....	0,9122 à 0,9337
n _D ^{25°}	1,4636 à 1,4747
Indice de Saponification.....	179,3 à 197,8
Indice d'iode.....	68,5 à 85,6
Indice d'acide.....	69,3 — 221,3
Matières insaponifiables.....	1,75 — 4,81 %

En 1935, dans un travail accompli à la Station expérimentale de Bari, BRANDONISIO (4) compare l'huile d'amandon et l'huile de mésocarpe. Pour cela, des noyaux provenant de la variété "Paesania" libérés de la pulpe dans une machine Acapulco ont été cassés, et les amandes triées à la

main. Par pression à froid, on obtient une huile vert foncé dont les caractères sont les suivants (*) :

Densité à 15°.....	0,919	
Degré réfractométrique à 25°.....	65	
Acidité libre.....	0,35	%
Indice de saponification.....	193,3	
Indice d'iode.....	91,35	
Matières insaponifiables.....	1,12	%
Glycérides liquides.....	89,18	%
Glycérides concrets.....	9,72	%
Acide oléique.....	72,44	%
Acide linoléique.....	16,72	%
Acide palmitique.....	8,4	%
Acide myristique.....	1,32	%

L'auteur constate que l'huile a tendance à rancir rapidement mais que sa faible proportion dans l'huile d'olive totale ne peut modifier en rien les qualités de cette dernière. L'huile d'amandon est sensiblement comparable à l'huile de mésocarpe, elle s'en distingue pourtant par une teneur plus faible en glycérides concrets.

Les résultats les plus complets, en même temps que les plus récents, ont trait à l'étude de l'huile de noyau d'olive espagnole publiée en 1953 par DE MINGO et ROMERO (32). Ces auteurs ont travaillé sur des noyaux d'olive de la variété "Manzanilla" provenant de la région d'Utrera (province de Séville). Les noyaux ont été débarrassés des restes de mésocarpe et, après dessiccation spontanée à la température ambiante et pulvérisation, l'extraction a été pratiquée dans un appareil de Soxhlet au moyen d'éther éthylique. Les résultats obtenus sont un peu différents des précédents. Nous les comparerons dans la suite de notre travail aux caractères des huiles extraites au laboratoire.

Densité à 15°.....	0,9281	
Indice d'acide.....	58,4	
Indice de saponification.....	188,8	
Indice d'iode.....	77,7	
Matières insaponifiables.....	1,02 à 1,6	%
Glycérides liquides.....	85	%
Glycérides concrets.....	15	%
Acide oléique.....	75	%
Acide linoléique.....	10	%
Acide palmitique.....	8,1	%
Acide stéarique.....	4,6	%
Acide myristique.....	2,3	%

2. TECHNIQUES & MÉTHODES UTILISEES.

Nous avons appliqué aux différents échantillons d'huile les Méthodes d'analyse normalisées françaises (A. F. N. O. R.) ou les Méthodes Unifiées Internationales mises au point par la Commission des Matières Grasses de l'Union Internationale de Chimie pure et appliquée: indice d'acide (60), indice de saponification (61), densité, indice de réfraction (62). L'indice d'iode a été déterminé par la méthode de Wijs (63), les matières insaponifiables ont été extraites par de l'éther de pétrole (64).

Les acides saturés ont été dosés par la *méthode de Bertram* (86) :

(*) L'obtention d'une huile de pression de coloration verte nous a toujours paru incompréhensible.

On saponifie 5 g. d'huile par de la potasse alcoolique et, après avoir extrait les matières insaponifiables, on oxyde les savons par le permanganate de potassium. Les savons des acides saturés ne sont pas atteints, tandis que ceux des acides éthyléniques sont oxydés. On décompose ensuite les savons par de l'acide sulfurique et l'on extrait les acides libérés par de l'éther de pétrole. Après évaporation du solvant, on prépare leurs savons de magnésium. Seuls les savons des acides saturés non oxydés sont insolubles. On recueille le précipité en milieu acide et on extrait les acides gras concrets par de l'éther de pétrole. Après distillation, on pèse les acides saturés ainsi séparés.

Détermination de l'humidité (33).

Nous avons utilisé le séchage infra-rouge par une lampe du type X-14 AGAT. La teneur en eau est donnée directement après 15 à 20 minutes de séchage. Cette méthode approximative n'a été utilisée que pour déterminer l'humidité des graines car elle n'est pas assez précise dans le cas de l'analyse des tourteaux.

Viscosité—Viscosimètre de Baume et Vigneron.

Principe: on mesure le temps mis par l'huile pour s'écouler entre deux repères d'une pipette étalonnée, dans des conditions de température fixes et connues.

Mode opératoire: un tube viscosimétrique portant trois repères est plongé dans un tube contenant l'huile à examiner et maintenu à l'aide d'un bouchon de caoutchouc de telle façon que le niveau d'affleurement corresponde au repère inférieur. Un thermomètre plonge également dans l'huile à travers un petit tube de verre en communication avec une poire de caoutchouc qui permet d'exercer une surpression et de faire ainsi monter l'huile dans le tube viscosimétrique.

L'ensemble de l'appareil est introduit dans une jaquette thermostatique à tubulure latérale surmontée d'un réfrigérant et dont une extrémité renflée en ballon permet de faire bouillir un liquide pur de point d'ébullition connu. On peut ainsi opérer à température rigoureusement fixe.

On fait monter l'huile dans le tube viscosimétrique et on interrompt la surpression. On note alors le temps qui s'écoule entre le passage du ménisque à la hauteur de chacun des deux repères supérieurs.

$$v \text{ (en centistokes)} = k \times t \times 100$$

t = temps d'écoulement en secondes

k = constante du tube viscosimétrique, indiquée par un bulletin d'étalonnage contrôlé par le Conservatoire National des Arts et Métiers et livré avec chaque tube (19).

Essai au froid.

Nous avons déterminé le point de trouble c'est à dire la température pour laquelle un début de cristallisation apparaît (69).

45 ml. d'huile filtrée et séchée sont versés dans un tube d'une capacité de 115 ml. On introduit un thermomètre dans l'huile et on l'agite souvent pour éviter la surfusion. Le tube est plongé dans de l'eau froide, puis dans un mélange réfrigérant (glace pilée + chlorure de sodium).

On note la température pour laquelle la portion du thermomètre immergée dans l'huile cesse d'être visible.

Cette mesure est assez grossière mais elle donne des renseignements pratiques sur la tenue au froid d'une huile.

Dosage des stérols (87).

On saponifie 10 g. d'huile exactement pesés par 30 ml. de potasse alcoolique 2 N, sous réfrigérant à reflux pendant une heure. Après évaporation de la majeure partie de l'alcool au bain-marie, le savon est dissous dans 150 ml. d'eau chaude et introduit dans une ampoule à décanter. Après refroidissement, on extrait les matières insaponifiables par 100 ml. d'éther sulfurique, puis, cinq fois 50 ml. du même solvant. Les solutions éthérées sont réunies, le solvant est évaporé au bain-marie, et le résidu est saponifié de nouveau pendant 30 minutes sous réfrigérant ascendant par 10 ml. de potasse 2 N.

Les savons dissous dans l'eau (75 ml.) sont épuisés trois fois par 50 ml. d'éther, les solutions éthérées étant ensuite lavées trois fois par 5 ml. d'eau distillée.

On sèche sur du sulfate de sodium anhydre et on évapore l'éther après filtration. Le résidu est dissous dans 10 ml. de chloroforme et on ajoute 15 ml. d'une solution de digitonine à 1 % dans l'alcool à 80°. Après 20 minutes de repos, on réduit le volume à 10 ml. environ au bain-marie et on abandonne au repos pendant 12 heures.

On filtre le précipité sur un creuset en verre d'léna G 4 taré, en rinçant le récipient avec de l'alcool à 80°. On lave avec du chloroforme, de l'acétone, de l'eau chaude, puis une dernière fois avec de l'acétone et on sèche le creuset et son contenu à 105° C jusqu'à poids constant.

$$\text{Stérols \%} = \frac{\text{poids des digitonides} \times 0,24 \times 100}{\text{poids de la prise d'essai}}$$

Dosage du squalène (88).

Réactifs:

— Solution à 0,05 N d'hyposulfite de sodium.

— Solution de brome: on dissout 8 g. de brome dans 20 ml. d'acide acétique pur à 99,5 %. D'autre part, on mélange 5,4 ml. d'acide sulfurique concentré, 20 ml. d'acide acétique et 8,1 ml. de pyridine. On mélange les deux solutions en refroidissant et on dilue à 1 litre avec de l'acide acétique.

On extrait les matières insaponifiables de 5 g. d'huile par de l'éther de pétrole selon la méthode habituelle, et on les dissout dans 5 ml. d'éther de pétrole. On prépare, d'autre part, une colonne chromatographique dans un tube de 0,8 cm. de diamètre et 30 cm. de haut. On la remplit d'alumine Merck sur une hauteur de 10 cm. Après avoir lavé la colonne avec 15 ml. d'éther de pétrole, on y fait passer la solution des produits insaponifiables ainsi que l'éther de pétrole utilisé pour rincer le ballon jusqu'à ce que l'on ait recueilli 50 ml. au bas de la colonne.

On évapore le solvant sous vide et courant d'azote, et on détermine l'indice d'iode du résidu repris dans 5 ml. de chloroforme. Pour cela on ajoute 10 ml. de réactif, on laisse à l'obscurité pendant 5 minutes, puis on introduit 5 ml. d'une solution à 10 % d'iodure de potassium et 40 ml. d'eau. On titre l'excès de réactif par l'hyposulfite de sodium 0,05 N en présence d'empois d'amidon. On fait un essai à blanc dans les mêmes conditions.

1 ml. de thiosulfate 0,05 N = 1,71 mg. de squalène.

Dosage du phosphore (20).

Réactifs:

— Solution de bleu de molybdène de titre 0,11 N au permanganate. On dissout 9,78 g. d'oxyde de molybdène MoO_3 dans 150 ml. d'acide sulfurique 36 N en chauffant jusqu'à dissolution totale. Puis on ajoute 440 mg. de molybdène métal et après dissolution on complète à 250 ml. par de l'acide sulfurique pur. Cette solution est diluée au 1/10e par de l'eau distillée au moment de son utilisation. Elle se présente alors comme une solution jaune.

— Solution d'alizarine sulfonate de sodium (200 mg. dans 100 ml. d'eau).

— Solution de soude 3,6 N.

— Solutions d'acide sulfurique N et 3 N.

Après calcination de la matière première, les cendres sont dissoutes dans de l'acide sulfurique dilué et on complète avec de l'eau à un volume connu.

On introduit dans un tube à essai une quantité de liquide contenant 1 à 10 γ de P et on complète avec de l'eau à 4 ml. Le contenu de tous les tubes disposés en série est successivement additionné de 1 ml. de SO_4H_2 3 N, une goutte d'alizarine, 1 ml. de NaOH 3,6 N, puis de SO_4H_2 N de façon à revenir le plus exactement possible au virage acide de l'indicateur.

On place tous les tubes dans un bain-marie bouillant couvert et, après 5 minutes, on y introduit 1 ml. de bleu de molybdène dilué. Après 20 minutes, on plonge les tubes dans de l'eau froide pour stabiliser la réaction. On mesure ensuite l'intensité de la coloration bleue formée.

Nous avons utilisé un électrophotomètre Meunier muni d'un filtre rouge et les résultats ont été calculés à l'aide d'une courbe d'étalonnage; pour cela nous avons dosé dans les mêmes conditions opératoires une solution de phosphate monopotassique PO_4KH_2^* dont 1 ml. correspond à 100 γ de phosphore.

Cette méthode nous a donné toute satisfaction. Elle est précise, fidèle, et ne nécessite que des quantités minimales de matière première.

(*) Solution contenant 0,4395 g de phosphate par litre (Phosphate monopotassique Analar = The British Drug Houses LTD. London).

CHAPITRE 2

CARACTERES & COMPOSITION DE L'HUILE D'AMANDON D'OLIVE EXTRAITE PAR L'ETHER DE PETROLE, SOLVANT USUEL DES LIPIDES

1. MÉTHODE L'EXTRACTION.

Les extractions ont été effectuées dans un extracteur de type spécial imaginé par Mlle. M.-Th. FRANÇOIS et réalisé par les Etablissements PROLABO. Entièrement rôdé, l'appareil se compose de deux cylindres de verre concentriques: le cylindre intérieur dont la base est constituée par un disque de verre fritté est maintenu en place par des pointes soufflées dans la gaine extérieure. Il est rempli par la matière première à épuisier finement broyée et soigneusement tassée. Le second cylindre, de diamètre un peu plus large, surmonte le ballon où bout le solvant, il est lui-même prolongé par un réfrigérant à bord festonné qui permet un arrosage régulier et continu de la masse à épuisier. Les vapeurs montent dans l'intervalle ménagé entre les deux cylindres, se condensent, puis le solvant traverse le tourteau de haut en bas en entraînant l'huile à travers le verre fritté.

L'appareil fonctionne en continu, il permet de plus un entraînement des lipides à chaud puisque le manchon de vapeurs contenu dans l'intervalle des cylindres maintient le tourteau à une température légèrement inférieure au point d'ébullition du solvant. L'épuisement est ainsi plus complet et plus rapide. La capacité de l'extracteur permet d'y introduire 800 g. de matière première.



2. MARCHE DE L'EXTRACTION ET RENDEMENT EN HUILE.

Les amandons sont finement pulvérisés dans un appareil à couteaux multiples et à grande vitesse, puis la poudre est tamisée au tamis module 32.

300 g. de poudre —d'humidité voisine de 6,5 %— sont alors introduits dans l'extracteur. Après dix heures d'extraction par de l'Essence B rectifiée au laboratoire (P. E. 65-69° C), le miscella est desséché sur du sulfate de sodium anhydre, filtré, puis distillé, sous pression réduite, dans un ballon taré et dans une atmosphère d'azote. On obtient 108g, 5 d'huile jaune assez foncée, soit un rendement de 38,7 % rapporté aux amandons secs. Au bout de 3 à 4 jours, l'huile laisse déposer quelques petits flocons blanchâtres constitués par des phosphoaminolipides, l'huile surnageante devenant parfaitement limpide. D'odeur et de saveur agréables, elle est assez fluide et ne présente aucun trouble à la température du laboratoire (20 à 22°).

3. ETUDE DES GLYCERIDES.

Les méthodes d'analyse physiques et chimiques classiques ont été appliquées à l'huile d'amandon, selon les normes décrites au début de notre travail. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant où figurent également, à titre de comparaison, les caractères des huiles de noyau d'olive extraites en Espagne par ROMERO, ainsi que ceux des huiles de mésocarpe d'olive extraites par pression.

	Huile de noyau d'olive extraite de la variété manzanilla par l'éther éthylique (Romero)	Huile d'amandon variété chemlali	Huile d'olive (Pression)
D $^{20^{\circ}}$ $_{4^{\circ}}$	0,9281 (D $^{15^{\circ}}$)	0,916	0,913 à 0,915
n $^{20^{\circ}}$ D	1,4673	1,4692	1,468 à 1,469
Pouvoir rotatoire...	0	0	0
Essai au froid	A $^{10^{\circ}}$, l'huile ne coule plus sur les parois du tube à essais, puis s'épaissit et se solidifie.	Commencement de trou- ble à -3° . A -10° , l'huile coule encore.	Solidification entre 0 et $+4^{\circ}$.
Indice d'iode.....	77,75	86,5	80 à 84
Indice de saponifi- cation.....	188,85	179,9	187 à 195
Indice d'acide.....	58,48	1,2	

4. EXTRACTION ET ÉTUDE, DES ACIDES GRAS PROVENANT DE L'HYDROLYSE DES GLYCERIDES.

L'extraction des acides gras a été pratiquée de la façon suivante: 50 g. d'huile sont introduits dans un ballon avec 250 ml. d'alcool à 95° et 20 g. de potasse dissoute dans un peu d'eau distillée. La saponification est effectuée dans une atmosphère d'azote pendant une heure, le ballon étant chauffé au bain-marie.

Puis, le contenu du ballon refroidi est versé dans une ampoule à décanter avec 500 ml. d'eau distillée. Après agitation, on extrait les matières insaponifiables à trois reprises par 150 ml. d'éther de pétrole. La solution éthéropétrolique est lavée avec de l'eau distillée et les eaux de lavage sont jointes à la solution savonneuse.

Les savons sont alors décomposés par de l'acide chlorhydrique. Les acides gras libérés se rassemblent à la surface; on les extrait par agitation avec trois fois 150 ml. d'éther sulfurique exempt de peroxydes, après avoir vérifié que la liqueur aqueuse contient bien un excès d'acide. La solution éthérée est lavée plusieurs fois avec de l'eau distillée jusqu'au moment où l'eau de lavage n'est plus acide, puis elle est desséchée sur du sulfate de sodium anhydre. Après filtration et distillation de l'éther au bain-marie et dans une atmosphère d'azote, le résidu est pesé. Il représente 47 g., c'est à dire un rendement de 94 % d'acides gras dont l'étude fournit les résultats suivants:

	Huile de noyau d'olive espagnole	Huile d'amandon
Acides gras totaux.....	94,5 %	94 %
Indice d'iode.....	81,26	93,8
D ^{20°} _{4°}	0,8985(D 15°)	0,8902
n _D ^{20°}	1,4651	1,4684
Indice de neutralisation.....	200,4	188,6
Poids moléculaire moyen des acides gras...	279,9	296
Teneur en acides saturés..... (méth. de Bertram)	12,74	9,6 %

5. EXTRACTION & ÉTUDE DES MATIÈRES INSAPONIFIABLES.

La solution éthéro-pétrolique des matières insaponifiables obtenue dans l'opération précédente lors de l'extraction des acides gras est distillée en prenant les précautions habituelles.

On obtient 0 g 75, soit 1 g. 50 % d'un résidu blanc jaunâtre d'aspect cireux où nous avons dosé les stérols totaux et le squalène, hydrocarbure polyéthylénique—existant en proportion notable dans les huiles d'animaux marins et, à titre exceptionnel pour une huile végétale, dans l'huile d'olive.

	Huile d'amandon (Romero)	Huile d'amandon (Laboratoire)
% de matières insaponifiables.....	1,02 à 1,5 % Suivant les méthodes.	1,5 %
Indice d'iode des matières insaponifiables..	96	155,4
Stérols totaux.....	0,1276	0,334
Squalène.....	0,138	0,299

Un épuisement de la solution savonneuse, par de l'oxyde d'éthyle, succédant à l'épuisement par l'éther de pétrole, n'entraîne plus aucune substance insaponifiable, ces dernières étant totalement solubles dans l'éther de pétrole.

6. DOSAGE DES PHOSPHOAMINOLIPIDES DE L'HUILE.

Une prise d'essai de 2 g d'huile est mêlée dans une capsule de quartz à 0g.50 de carbonate de sodium (76). Le mélange est placé sur la veilleuse d'un bec de Bunsen jusqu'à épaississement de l'huile, puis soumis à un chauffage plus fort jusqu'à calcination complète, en évitant que l'huile ne s'enflamme. On porte ensuite la capsule au four à moufle à 550° pendant deux heures.

Après refroidissement, les cendres sont reprises par de l'acide sulfurique dilué et une dilution est faite avec de l'eau distillée de telle façon que l'échantillon prélevé pour le dosage contienne 1 à 10 γ de phosphore. Les mesures sont faites selon la méthode de microdosage colorimétrique de J. CARLES. Admettant que la teneur en P des lécithines varie de 3,80 à 3,92 %, on utilise comme facteur de conversion un chiffre allant de 25,5 à 26,3. Seule la détermination du phosphore est exacte, la conversion en phosphoaminolipides étant empirique puisqu'on ignore leur nature exacte.

Teneur en phosphore % : 0,032 g.

Teneur en phosphoaminolipides (lécithines) : $0,032 \times 26 = 0,83$ %.

7. DISCUSSION DES RESULTATS.

1) Comparaison avec les huiles espagnoles:

L'étude comparée des huiles de noyau d'olive extraites par les auteurs espagnols et des huiles d'amandon extraites au Laboratoire, montre que ces dernières sont plus riches en glycérides éthyléniques liquides—les indices d'iode et les indices de réfraction sont plus élevés, la différence de leur valeur étant plus grande encore pour les acides gras; la teneur en acides saturés déterminée par la méthode de Bertram est plus faible (9,6% au lieu de 12,7 %) —. L'augmentation de la proportion des liaisons éthyléniques dans la chaîne s'accompagne d'une élévation parallèle de la fluidité: l'huile reste liquide à température très basse (— 10° C).

La valeur plus faible de l'indice de neutralisation des acides gras indique la présence d'acides à chaînes plus longues. Ce caractère confirme le précédent: certains acides saturés (myristique et palmitique en C_{14} et C_{16}) sont, en effet, plus courts que les acides éthyléniques en C_{18} . Leur présence entraîne une diminution de l'indice d'iode et une élévation de l'indice de saponification.

Les autres caractères sont sensiblement identiques. Les différences constatées doivent, sans doute, être imputées au fait que les deux huiles proviennent de variétés distinctes cultivées dans deux régions éloignées l'une de l'autre. L'influence du climat, notamment de la température et de l'humidité, sur le degré de saturation des huiles est, en effet, un phénomène général bien connu des spécialistes.

2) Comparaison avec les huiles d'olive commerciales:

L'huile d'amandon est voisine de l'huile de mésocarpe. Elle s'en distingue par une fluidité et un indice d'iode plus élevés. La teneur en matières insaponifiables est également plus forte, la teneur en squalène est sensiblement identique bien qu'elle varie considérablement selon les échantillons.

	Huile de mésocarpe	Huile d'amandon
<i>Teneur en squalène.....</i>	150 à 726 mg %	299 mg %
<i>Indice d'iode des substances insaponifiables.....</i>	197 à 206	155

CHAPITRE 3

INFLUENCE DE LA MATIERE PREMIERE. COMPARAISON ENTRE L'HUILE DE NOYAU D'OLIVE & L'HUILE D'AMANDON

Il apparaît clairement après l'étude des travaux antérieurs que l'on désigne sous le nom d' "huiles de noyau d'olive" des huiles extraites de la poudre de noyau entier, aussi bien que des huiles obtenues à partir d'amandons isolés. Il n'est cependant pas prouvé que ces huiles soient identiques, et il est possible que cette confusion soit l'une des raisons du désaccord qui existe entre les auteurs au sujet de la valeur de l'huile d'amandon d'olive. Il importait donc de définir, avec précision, les caractéristiques de la matière première permettant l'obtention d'une huile goûtée.

Depuis longtemps on affirmait que l'endocarpe de la drupe de l'olivier renfermait une très petite quantité d'huile variant suivant les auteurs de 0,6 à 3,6 %. Au cours d'une étude des conditions de germination (80), J. RUBY constatait sur des coupes colorées au Soudan III l'absence de matières grasses dans le tissu scléreux de l'endocarpe. Par contre, des gouttelettes d'huile apparaissent le long des faisceaux libero-ligneux, en faible proportion quand les noyaux proviennent d'olives mûres et saines, en quantité beaucoup plus importante quand les fruits ont fermenté, lors de la surmaturation se produisant pendant le stockage en tas par exemple. De plus, les noyaux sains et pauvres en lipides s'enrichissent si on les laisse tremper dans l'huile. La teneur en matières grasses peut ainsi passer de 0,53 % à 3,19 %.

S'il en est ainsi, les lipides du bois du noyau sont constitués par de l'huile de mésocarpe qui a été adsorbée par le tissu scléreux. Lors du stockage après le denoyautage des olives, cette huile va subir l'action oxydante de l'air atmosphérique auquel elle est exposée et celle des ferments du noyau au contact desquels elle se trouve. Il n'y a donc rien d'étonnant, a priori, à ce que l'huile de noyau d'olive soit connue comme une huile de mauvaise qualité, riche en acides gras libres et oxydés. Pour vérifier cette hypothèse, nous examinerons successivement les huiles de noyau entier, les huiles d'endocarpe et les huiles d'amande, en notant leurs caractères organoleptiques, leur acidité et leur indice d'iode, ce dernier pouvant nous donner des indications précises sur la nature de l'huile étudiée.

1.—EXTRACTION DES HUILES.

Nous avons utilisé des noyaux d'olive de la variété Chemlali, couramment cultivée dans le Sahel tunisien et qui provenaient du Domaine de l'ENFIDA. D'un poids moyen de 0g,20, l'amande représentant 13 à 18 %

du poids total, ces noyaux récoltés au cours de la saison 1956-57, ont été étudiés trois mois environ après le dénoyautage des olives. Ce dernier effectué à Enfidaville au cours de l'extraction continue selon le procédé Westfalia-Enfida, avait été suivi d'un lavage et d'un séchage immédiat. Bien que dépourvus de restes de mésocarpe, les noyaux ont été d'abord nettoyés pour les débarrasser de la poussière qui les entourait.

Les noyaux entiers sont ensuite grossièrement pulvérisés dans un moulin Peugeot manuel en vue d'obtenir une poudre totale. Pour préparer des huiles d'endocarpe et des huiles d'amande, il a fallu soumettre un même lot de noyaux à un cassage au marteau, les amandes étant ensuite triées à la main. Les fragments d'endocarpe sont broyés avec le même moulin, tandis que les amandes plus tendres sont réduites en poudre dans un appareil à couteaux multiples et à grande vitesse du type "Turmix". Les trois fractions obtenues sont immédiatement traitées de façon identique: après en avoir déterminé l'humidité, la poudre est introduite dans une cartouche de papier filtre, elle-même placée dans un appareil de Soxhlet. L'extraction est pratiquée par un solvant classique des huiles, l'éther de pétrole rectifié. Après huit heures d'extraction, le miscella est desséché par un séjour de quelques heures sur du sulfate de sodium anhydre, filtré, enfin distillé au bain-marie sous pression réduite et dans une atmosphère d'azote. Le ballon qui était préalablement taré est refroidi et pesé.

2.—CARACTÈRES DES HUILES.

Les rendements et les caractères des huiles obtenues sont réunis dans le tableau suivant:

	Huile totale de noyau	Huile de l'endocarpe (Partie ligneuse)	Huile d'amandon
Couleur.....	Brun-verdâtre.	Brun-verdâtre très foncée.	Jaune.
Odeur.....	Forte et désagréable.	Acre et forte.	Pas d'odeur spéciale saveur agréable.
Rendement % (1).....	7,4 (8,16)	1,2 (0,8)	38 (39)
Indice d'acide.....	16,5	65,5	2,3
Indice d'iode.....	87,7	77,1	86,9

A) On voit immédiatement que seule l'huile d'amandon de couleur jaune, peut être utilisée telle quelle pour un emploi alimentaire. L'huile de noyau, de couleur très foncée, est très acide; elle doit en être nettement distinguée. On peut attribuer, au moins en partie à cette confusion, la mauvaise réputation de l'huile d'amandon d'olive.

B) L'huile extraite de l'endocarpe, de couleur brun-vert, d'odeur désagréable, présente deux caractères importants:

- a) son acidité très élevée est en relation avec son degré d'altération.
- Nous avons confirmé ce fait par la mesure de l'absorption en lumière

ultra-violet pour la longueur d'onde de 270 m μ . (*). Le coefficient d'absorption spécifique d'une solution de l'huile à 1 % dans le cyclohexane est, en effet, de 2,60, chiffre exprimé en densité optique, et indiquant une forte teneur en acides oxydés.

b) d'autre part, son indice d'iode est nettement inférieur à celui de l'huile d'amandon, soit respectivement 77,1 et 87,9. L'acidité élevée ne permet pas d'expliquer cette différence, puisque, bien au contraire, l'indice d'iode des acides gras est supérieur à celui des glycérides correspondants. Il semble que ce caractère tienne plutôt à la nature de l'huile qui provient du mésocarpe de l'olive et non de l'amande. Les huiles de pulpe ont, en effet, un indice d'iode variant, selon les normes, de 77 à 85 quand elles sont préparées par pression, et plus bas encore pour les huiles extraites par solvant.

3.—DETERMINATION DE LA MATIÈRE PREMIÈRE A UTILISER.

Si l'on veut extraire l'huile d'amandon pour une utilisation alimentaire, il importera donc de séparer les amandes de l'endocarpe qui les entoure. Cette séparation doit-elle être totale, ou l'émination de la majeure partie du bois est-elle suffisante? C'est ce que nous avons cherché à déterminer en pratiquant des essais progressifs d'enrichissement en amandes.

A) *Obtention d'une poudre extractive contenant 60 % d'amandes et 40 % de bois.*

Pour cet essai pratiqué au Laboratoire, nous avons mis à profit la propriété qu'ont les coques d'être beaucoup plus résistantes à la pulvérisation que les amandes. La matière première a été soumise à l'action ménagée et progressive d'un broyeur à marteaux garni de grilles de plus en plus fines (*), chaque opération de broyage étant suivie d'un tamisage.

1.500 g. de noyaux sont passés au broyeur avec la grille la plus grosse (diamètre des perforations: 8 mm.), puis le mélange obtenu est tamisé au tamis métallique module 34. Le refus du tamis, soit 800 g., est constitué par des coques en gros fragments accompagnées de parcelles négligeables d'amandon. La fraction la plus fine est soumise à un nouveau broyage avec la grille n° 3 (3 mm.), puis à un passage au tamis module 31. Le résidu est broyé une dernière fois avec la grille n° 4 (2 mm.), et tamisé de la même façon. On obtient ainsi 300 g. de coques sans amandes et 180 g. de poudre, soit l'ensemble de tout ce qui est passé à travers le tamis n° 31 et qui est formé par la totalité des amandons et une certaine quantité de bois finement pulvérisé.

Sachant que les amandes représentent en moyenne 15 % du poids des noyaux, et admettant que la proportion d'amandes non broyées est négli-

(1) Les résultats exprimés entre parenthèses sont empruntés à la publication de ROMERO (32). Ils ont été modifiés pour être exprimés en pourcentage de substance sèche.

* Voir plus loin l'étude détaillée de cette méthode de détermination du degré d'oxydation d'une huile.

geable, on peut évaluer de façon assez précise la composition de cette poudre extractive:

Quantité d'amandons contenus dans 1.500 g de noyaux:

$$\frac{15 \times 1.500}{100} = 225 \text{ g.}$$

Pourcentage d'amandons dans la poudre extractive:

$$\frac{225 \times 100}{380} = \text{soit sensiblement } 60 \text{ \%}.$$

Pourcentage de coques dans la poudre extractive:

$$100 - 60 = 40 \text{ \%}.$$

Le même traitement répété sur 17 kg. de noyaux a permis d'obtenir 4 kg. de poudre grossière dont l'huile a été extraite au moyen d'éther de pétrole dans un extracteur de laboratoire (modèle réduit d'extracteur fixe) construit par la Société OLIER. Après imprégnation, 14 litres de solvant utilisés pendant 20 heures fournissent un miscella dont la distillation suivant les méthodes classiques laisse 860 g. d'huile. Le rendement total est le suivant:

$$\frac{860 \times 100}{4.000} = 21,5 \text{ \%}.$$

Cette huile est verte, son indice d'acide est égal à 4,2.

B) *Poudre d'amandons contenant 10 % de coques.*

Cette poudre nous a été fournie par les Etablissements BARDON à Le Muy (Var). Elle résulte du procédé industriel de séparation amandes-coques mis au point par cette société en vue d'obtenir des coques transformées ensuite en un fleurage utilisé en panification. Un broyeur-malaxeur de type particulier effrite en poudre fine les amandes, tandis que les coques sont brisées sommairement. Par criblage, on peut ensuite séparer une poudre d'amandons assez fine contenant une proportion de parcelles de noyaux évaluée à 10 %.

Après deux mois de stockage, l'huile de cette poudre a été extraite par de l'éther de pétrole dans le même extracteur OLIER que précédemment. Le rendement a été de 28 % d'une huile verte, sensiblement identique à la première, mais plus acide encore (I. A. = 23), phénomène normal puisque la poudre a été conservée plus longtemps. Après un an, l'indice d'acide passe à 60,3.

Il faut noter, de plus, que les essais d'extraction par pression pratiqués respectivement sur ces deux poudres extractives au moyen d'une petite presse à cage de laboratoire (force maximum 300 kg.), n'ont pas donné

(3) Broyeur du type AO 6982—Société Française des broyeurs HENRY et Cie—Paris Aubervilliers.

de résultats satisfaisants, en raison des propriétés absorbantes des particules scléreuses vis à vis de l'huile chassée des cellules par la force de pression. Le rendement en huile est tout à fait dérisoire (5 % au maximum), l'huile est d'autre part acide et verte, les essais de décoloration sur charbon activé ont échoué.

C) *Séparation industrielle coques-amandons sans pulvérisation.*

A la demande de la direction du Domaine d'ENFIDA, un procédé industriel de séparation des amandons entiers et des coques a été mis au point tout dernièrement.

Le principe en est le suivant (31) :

Les noyaux préalablement débarrassés des restes de mésocarpe et de la poussière qui les entoure, sont calibrés grâce à un système de tamis multiples et classés suivant leur taille en lots de dimensions homogènes. Les noyaux de chaque lot sont alors décortiqués par un broyage progressif sur des appareils à cylindres, chaque passage dans le broyeur étant suivi d'un tamisage répété qui élimine les débris de taille inférieure à celle des amandons entiers aussi bien que les fragments de coques plus gros que les amandons. Sur les éléments moyens est alors pratiquée la séparation coques-amandes; pour cela, on fait subir successivement au mélange plusieurs calibrages en largeur et en longueur, puis pour finir un calibrage par densité à l'aide d'une table de travail en vibration, traversée par un puissant courant d'air (table densimétrique à air pulsé "Vibragem" construite par la Société SOCAM). Cette chaîne de travail conduit à l'obtention d'une fraction renfermant 95 % des amandons accompagnés de quelques débris de coque dont la proportion ne dépasse pas 3 %. Le rendement est de 2 à 4 kg. d'amandons pour 100 kg. d'olives de départ correspondant à 20 kg. environ de noyaux.

Les avantages de la méthode sont multiples :

— Les amandons sont entiers pour la très grande majorité, les brisures seraient en effet néfastes car sous l'action de l'air, les actions diastatiques s'exerceraient à la fois en libérant les acides gras et en oxydant les composés éthyléniques.

— Les amandons sont sains, ceux qui sont altérés étant plus légers se trouvent par là-même éliminés.

— Les débris de coques sont très peu abondants. Leur résistance au broyage étant plus grande, ils resteront entiers quand on pulvérisera les amandes pour en extraire l'huile.

— Enfin, la grande supériorité de cette méthode sur les précédentes tient au fait que les amandons entiers convenablement séchés et stockés dans de bonnes conditions pourront être conservés un certain temps sans altération importante de l'huile. Il n'en est pas de même de toute poudre qui doit être utilisée immédiatement, l'huile se trouvant par suite de la rupture des parois cellulaires au contact immédiat des diastases lipolytiques et oxydantes.

Le broyage poussé de ces amandons et leur extraction dans des con-

ditions opératoires identiques aux précédentes fournit, avec un rendement de 38 %, une huile jaune et peu acide (I. A. = 2,6).

Le tableau suivant permet de comparer les caractères des huiles obtenues dans des conditions variées, à partir des différentes matières premières :

MATIERE PREMIERE UTILISEE	COULEUR DE L'HUILE	RENDEMENT %	INDICE D'ACIDE
<i>Noyau entier</i> (85 % coques) (15 % amandes)	Brun-verdâtre	7,4	16,5
<i>Poudre Laboratoire traitée aussitôt</i> (40 % coques) (60 % amandes)	Verte	21,5	4,2
<i>Poudre industrielle après deux mois</i> (10 % coques) (90 % amandes)	Verte	28	23 (60,3 après un an)
<i>Amandons industriels entiers</i> (3 % coques non broyées)	Jaune	38	2,6
<i>Amandons triés à la main au Labo</i>	Jaune	38,1	2,3

L'examen de ces résultats permet quelques remarques :

1.° Seules les huiles extraites d'amandons dépourvus de coques ou n'en contenant que très peu sont jaunes et d'odeur agréable.

2.° Toutes les huiles extraites de poudres préparées quelque temps avant l'extraction sont très acides, donc inutilisables sans les soumettre à un raffinage poussé. Le seul procédé de séparation permettant l'obtention d'une huile alimentaire est celui qui laisse les amandons entiers après la séparation des coques.

3.° Seules les poudres d'amandon pauvres en coques peuvent être déshuilées par un procédé quelconque et notamment par pression hydraulique.

En conséquence, et pour ces multiples raisons, il convient de préconiser comme matière première l'emploi des amandons séparés par un procédé mécanique, à l'exclusion de toute autre méthode.

CHAPITRE 4

LES HUILES D'AMANDON EXTRAITES PAR DIFFERENTS PROCEDES

Les caractéristiques de la matière première à utiliser étant ainsi bien définies, plusieurs méthodes se présentent pour en extraire l'huile :

- pression,
- extraction classique par divers solvants,
- extraction par microbroyage à froid au sein de solvant,

I

EXTRACTION PAR PRESSION.

La pression est le procédé le plus anciennement connu des méthodes d'extraction des huiles et elle a toujours tenu une place de choix dans l'huilerie. Malgré le développement des solvants, les huiles de pression restent les plus goûtées, et les huiles alimentaires de premier choix, ainsi que les huiles pharmaceutiques, sont obligatoirement préparées par ce procédé : huile d'olive, huile d'amande et de noyau, huile d'arachide, huile de ricin.

L'industrie utilise plusieurs méthodes : la pression hydraulique discontinue n'est plus guère en usage que pour les huiles officinales et pour l'huile d'olive, et elle s'efface pour faire place aux méthodes continues plus modernes.

1.—Huiles de pression hydraulique.

Nous disposons au laboratoire d'une petite presse à cage de laboratoire de 12 tonnes construite par la Société Emidecau (Paris), permettant d'exercer une pression maximum de 310 kg. au cm.² Cette presse se compose d'un châssis supportant deux plateaux mobiles en fonte. On introduit la matière première convenablement divisée dans une cage cylindrique à parois perforées reposant sur le plateau inférieur sur lequel agit une pompe à vis pleine d'huile. Le plateau supérieur est monté à l'extrémité d'une vis munie d'un volant ; par l'intermédiaire d'un cylindre de diamètre légèrement inférieur à celui de la cage, il permet une première compression.

Les amandons sont finement broyés ; il est nécessaire que l'humidité ne dépasse pas 4 % pour éviter qu'il ne se forme une pâte dont un broyage suffisamment poussé deviendrait très laborieux. On introduit 2 kg. de ce broyat dans la cage et après avoir serré au maximum la vis supérieure, on monte la pression par palier. Après écoulement total de l'huile,

ce qui demande environ une demi-heure, le gâteau de presse est démoulé, divisé, puis soumis à un nouveau broyage, enfin introduit dans une étuve dans laquelle on a aussi porté la cage. Quand l'équilibre de température est atteint (60-70° après une heure environ), on procède à une seconde pression. Les huiles de première et de deuxième pression sont filtrées séparément pour éliminer les débris végétaux qu'elles peuvent contenir.

Le tourteau résiduel est de nouveau broyé et soumis à un épuisement par de l'éther de pétrole rectifié, afin de déterminer le pourcentage d'huile résiduelle.

Les rendements et les caractères des huiles obtenues sont réunis dans ce tableau :

	RÉCOLTE 1956-57 (Extraction après 1 an)			RÉCOLTE 1957-58			RÉCOLTE 1958-59		
	1ère. Pression	2ème. Pression	Huile résiduelle	1ère. Pression	2ème. Pression	Huile résiduelle	1ère. Pression	2ème. Pression	Huile résiduelle
Rendement % ..	15,7	6,4	7,4	26	6	6	12	8	14
TOTAL....			29,5 %			38 %			34 %
Couleur de l'huile.	Jaune	Jaune très légèr. verdâtre	Brune très trouble	Jaune clair	Jaune moyen + foncé	Brune	Jaune d'or	Jaune d'or	Jaune foncé
Indice d'acide...	3,4	26,2	31,5	0,6	1,5	4	0,4	0,6	1,8
Indice de saponi- fication.....	190,8	192,7	178	178,6	182,3	173,1	—	—	—
Indice d'iode....	97,8	95,7	94	91,1	88,6	85,9	89,9	88,5	86,3
Densité.....	—	—	—	0,915	0,916	0,916	0,915	0,915	—
Taux de matiè- res insaponifi- ables.....	—	—	—	1,1%	1,2%	2,8%	—	—	—

— Les rendements en huiles de première et de deuxième pression sont assez comparables à ceux de l'extraction alcoolique. Ils peuvent être améliorés si l'on dispose d'un matériel approprié, comme l'ont montré les Etablissements Olier (Clermont-Ferrand) qui ont bien voulu entreprendre des essais systématiques en vue de mettre au point les conditions les plus favorables. On utilise à cet effet des cages à barreaux jointifs et non à perforations, ces dernières étant trop vite obturées par suite du peu de corps des amandons. Les espacements entre les barreaux sont nuls au départ et sous l'effet de la pression, les barreaux s'écartent légèrement pour laisser passer l'huile. Après avoir broyé la matière première à l'état de sable mi-fin, on conseille de travailler en deux pressions successives, d'effectuer une montée en pression assez lente pour éviter que le tourteau ne forme trop vite un bloc très dur (30 minutes environ), et de limiter cette pression à 250 kg. par cm.² Ces opérations menées à froid (30° au maximum) permettent un épuisement tel que le tourteau résiduel

contient 13 à 15 % d'huile. En travaillant à 70°, on peut ramener cette teneur à 9,5 %.

— Les huiles de pression sont riches en glycérides non saturés: l'indice d'iode est très voisin de celui des huiles extraites par l'alcool ou par l'acétone. Les mêmes remarques s'appliquent à l'acidité et au taux de matières insaponifiables. Les huiles de deuxième pression à chaud sont d'autant plus acides que la matière première est plus ancienne ou que l'opération de seconde pression a été un peu retardée.

2.—Huile de pression continue.

Des essais pratiqués également par la Société Olier ont été conduits à l'aide d'une presse continue automatique du type "Atlas B₂". La presse est constituée par une cage dont le diamètre diminue vers la sortie; elle est faite d'un assemblage de barreaux d'acier dont l'écartement est soigneusement réglé pour permettre l'écoulement de l'huile sans entraînement sensible de tourteau. Un arbre portant des éléments de spires est animé d'un mouvement de rotation qui fait progresser le tourteau dans la cage en augmentant la pression. Un cône plus ou moins enfoncé à l'orifice de la cage règle la sortie du tourteau déshuilé tout en faisant croître encore la pression. Dans le cas présent l'opération a été conduite sans chauffage préalable, les tourteaux délivrés en marche normale atteignant la température de 42-44°.

AMANDONS RECOLTE 1958-59

Rendement en huile.....	26 %
Teneur en huile du tourteau résiduel.....	11 %
Couleur.....	jaune d'or
Indice d'acide.....	0,4
Indice d'iode.....	87
Indice de saponification.....	190

Tous ces essais sont encourageants. Ils montrent la possibilité d'obtenir par pression hydraulique ou par pression continue des huiles dont les caractères sont ceux des huiles alimentaires directement consommables.

II

EXTRACTION PAR SOLVANTS.

L'industrie utilise les solvants, soit pour la délipidation directe des graines oléagineuses, soit plus souvent pour extraire l'huile résiduelle des tourteaux de pression.

Les quatre solvants organiques usuels sont:

- l'essence B,
- le trichloréthylène,
- et, à titre moins général, l'éthanol,
- et l'acétone.

Nous les avons employés successivement pour l'épuisement des amandons.

A) EXTRACTION PAR L'ESSENCE B.

Le solvant utilisé est la fraction de coeur de l'essence B, mélange de carbures d'hydrogène provenant de la distillation du pétrole brut. La rectification au moyen d'une petite colonne à plateaux de laboratoire donne un distillat passant totalement entre 65 et 69° C et correspondant sensiblement à de l'hexane technique.

C'est le plus actif et le plus sélectif des solvants des lipides. Sa chaleur de vaporisation peu élevée permet une récupération facile et peu coûteuse. Il présente, cependant, le gros inconvénient d'être très inflammable; il est, d'autre part, un aussi bon solvant des acides gras libres que des glycérides, ce qui ne permet pas l'obtention d'huiles désacidifiées.

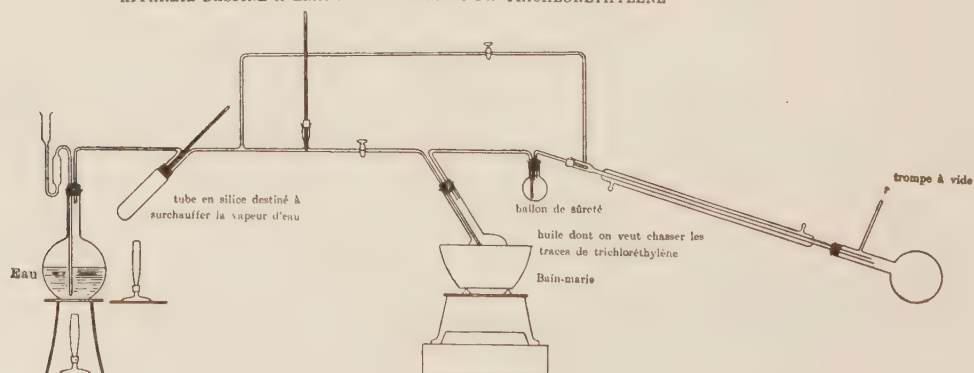
Caractères des huiles extraites par l'éther de pétrole.

	Rendement	Indice d'acide	Indice d'iode	Indice de saponification	% matières insaponifiables
AMANDONS 1956-57	38 %	2,3	86,5 à 90	179 à 193	
AMANDONS 1956-57 Extraction après 1 an de stockage	31,5 %	15,6	89,4	170,7	
AMANDONS 1957-58	38,7 %	1,2	86,5	179,9	1,5

B) EXTRACTION PAR LE TRICHLORÉTHYLÈNE.

Le trichloréthylène, solvant chloré de plus en plus utilisé dans l'industrie car il est ininflammable, est également un bon solvant des lipides; il fournit un rendement comparable à celui de l'hexane, parfois même légèrement supérieur puisqu'il a tendance à dissoudre certaines résines, ce phénomène entraînant d'ailleurs l'obtention d'huiles souvent plus colorées et troubles. Ce solvant doit, de plus, être préalablement stabilisé car les très petites quantités d'acide chlorhydrique qui peuvent se former par hydrolyse au contact de l'humidité des graines risqueraient d'augmenter l'acidité de l'huile (*).

APPAREIL DESTINÉ À ÉLIMINER LES TRACES DE TRICHLORÉTHYLÈNE



L'extraction a été pratiquée dans l'extracteur type laboratoire. Le miscella est ensuite évaporé selon les méthodes habituelles, puis les dernières traces de solvant sont chassées par entraînement au moyen de vapeur d'eau surchauffée.

Caractères des huiles extraites par le trichloréthylène.

AMANDONS 1957-58

Rendement.....	41,2 %
Couleur.....	jaune-brun
Indice d'acide.....	0,9
Indice d'iode.....	88,3
Indice de saponification.....	180
% de matières insaponifiables.....	1,6 %

C) EXTRACTION PAR L'ÉTHANOL.

a) *Historique.*

Bien que CHEVREUL ait déjà utilisé l'éthanol en 1823 au cours d'essais de fractionnement du beurre (21), les premières indications d'extraction d'huiles par ce solvant viennent sans doute d'un brevet français relatif à l'extraction de l'huile de soja, demandé à Paris en 1924 et exploité en Chine (15). Divers auteurs ont depuis lors perfectionné ce brevet pour améliorer le rendement dans l'extraction du soja. C'est ainsi que BECKEL et ses collaborateurs ont mis au point un procédé d'extraction continue avec recyclage de l'alcool (2). Plus tard les travaux réalisés au laboratoire Chevreul sous la direction de Melle M.-Th. FRANÇOIS ont montré les avantages de cette méthode d'extraction qui a été appliquée par la suite aux graines d'arachide et de colza (59), puis à la graine de lin (52) et aux germes de maïs (85).

L'alcool éthylique est un mauvais solvant des lipides. Il présente toutefois la particularité de dissoudre à chaud les glycérides qui se séparent ensuite par refroidissement, tandis que les impuretés et les acides gras libres, plus solubles, restent dans la phase solvant. On obtient ainsi une phase huileuse pauvre en alcool dont on peut éliminer le solvant avec une dépense minime de vapeur et qui présente de plus, une acidité libre tellement faible que l'opération de neutralisation devient inutile.

b) *Marche de l'extraction.*

L'extraction a été pratiquée à l'aide d'éthanol à 96,5°, les amandons pulvérisés étant maintenus dans l'extracteur par le manchon de vapeurs à une température voisine de 75° C. L'alcool qui bout dans le réservoir se colore progressivement en jaune, puis se trouble quand la limite de solubilité des glycérides est atteinte, enfin une phase insoluble se sépare. Il faut 20 heures pour épuiser 500 g. de poudre d'amandons. Après ce laps de temps, le miscella continue à se colorer mais l'évaporation de quelques gouttes du liquide filtrant à travers le verre fritté montre qu'il ne laisse plus de résidu lipidique.

Le miscella est alors abandonné à un refroidissement lent à la tempé-

(*) Nous avons utilisé du trichloréthylène stabilisé, aimablement fourni au Laboratoire par la Société Pechiney.

rature du laboratoire. Après 24 heures, le ballon présente l'aspect suivant :

- au fond, une couche d'huile s'est décantée,
- au-dessus de l'huile, la solution alcoolique est limpide et fortement colorée en brun-rouge,
- entre l'huile et la solution alcoolique, on observe une zone intermédiaire, constituée par une pellicule solide.

c) *Séparation des différentes phases.*

L'huile se trouvant au fond du ballon est soigneusement décantée, on en chasse alors les dernières traces d'alcool par un courant d'azote à la température du bain-marie jusqu'à poids constant. L'huile obtenue est pesée et conservée dans un flacon bouché, c'est l'huile neutre.

La solution alcoolique est filtrée. Le résidu insoluble restant sur le filtre, et constitué par ce que nous avons appelé la phase intermédiaire, est lavé par de l'éthanol, puis par de l'éther de pétrole pour éliminer les traces de lipides. Il est ensuite séché puis conservé en vue d'une étude ultérieure.

La solution limpide est distillée sous pression réduite, elle abandonne un résidu abondant brun-rouge, de consistance visqueuse, de saveur sucrée et très amère. On l'épuise par de l'éther de pétrole bouillant qui extrait tous les lipides dissous dans la phase alcoolique, puis la solution éthéro-pétrolique est séchée sur du sulfate de sodium anhydre, et distillée. L'huile obtenue est très colorée en brun, d'odeur forte, nous l'appellerons "huile acide" étant donnée sa très grande richesse en acides gras libres. La phase insoluble dans l'éther de pétrole qui constitue la phase alcoolique délipidée sera également étudiée ultérieurement. Après extraction de 100 g. d'amandons secs, la répartition des différentes phases se présente de la façon suivante :

Huile neutre: 21 à 30 % (elle peut atteindre 35,5 % si l'extraction est prolongée pendant encore 20 heures).

Huile acide: 1 à 4 %.

Phase intermédiaire: 1,5 %.

Phase alcoolique délipidée: 17 à 26 %.

d) *Etude des lipides neutres et acides. Discussion des résultats.*

HUILES D'AMANDONS EXTRAITES PAR L'ETHANOL

	HUILE NEUTRE					HUILE ACIDE		
	Rdt.	I. A.	I. I.	I. S.	Mat. insap.	Rdt.	I. A.	I. I.
AMANDONS 56-57..... (Extraction immédiate)	23 %	0,4	91,9	189		1 %	50,7	81,5
AMANDONS 56-57..... (Extraction après 1 an)	21 %	0,6	95,7	181		4 %	76,5	
AMANDONS 57-58.....	30,7	0,6	91	177,4	1,1 %	1 %	45,4	82

— Seule l'huile neutre peut être comparée aux huiles extraites par les autres solvants. De couleur jaune d'or, nettement plus claire que celle extraite par l'éther de pétrole, elle reste parfaitement limpide et ne laisse aucun dépôt. Ces caractères organoleptiques qui se joignent à une acidité très faible en font une huile d'excellente valeur gustative utilisable directement.

L'huile acide est brune, elle abandonne un abondant résidu concret après quelques jours.

— Le rendement en huile utilisable est relativement faible, il représente des $\frac{2}{3}$ aux $\frac{3}{4}$ des lipides totaux. Une partie des lipides restants se trouve dans la phase solvant, la proportion de lipides acides variant suivant l'acidité primitive de l'huile. Plus celle-ci est grande, plus l'alcool retient de glycérides en dissolution.

Il faut noter de plus que, même si l'on prolonge l'extraction très longtemps, il reste toujours dans le tourteau une certaine quantité d'huile voisine de 6 %. Si l'on épuise le tourteau par de l'éther de pétrole, on remarque que cette huile résiduelle est identique à l'huile neutre (même indice d'acide et même indice d'iode). Il s'agit donc là d'un simple phénomène mécanique dû à l'absorption de l'huile par les particules solides; on ne peut en aucun cas affirmer que ce soient les glycérides les moins solubles qui restent dans le tourteau.

— L'indice d'iode des lipides neutres est plus élevé que celui des lipides acides. Cela peut paraître contradictoire puisque les acides gras ont un indice d'iode supérieur à celui des glycérides correspondants. Les glycérides éthyléniques à indice d'iode élevé étant les plus solubles dans l'alcool froid, on ne peut trouver aucune explication à ce phénomène dans la présence de glycérides à côté des acides gras dans l'huile acide. Force nous est donc de penser que la cause en revient aux acides gras eux-mêmes qui contiendraient une forte proportion d'acides saturés d'indice d'iode nul. Il faudrait donc supposer que les liaisons glycérido-acides saturés sont les premières rompues par les lipases de la graine, peut-être parce que certaines de ces chaînes sont plus courtes (les acides myristique et palmitique sont respectivement en C_{14} et C_{16} , tandis que les acides oléique et linoléique sont en C_{18}). Ceci semble confirmé par le fait que l'huile extraite par l'éther de pétrole constituée par les lipides totaux, a un indice d'iode inférieur également à celui de l'huile neutre.

e) *Etude de la phase alcoolique délipidée.*

Le résidu de la distillation de la phase alcoolique renferme toutes les substances alcool-solubles non lipidiques. Le titre de l'éthanol à 96° 5 diminue au cours de l'extraction par suite de l'humidité de la graine et, en même temps, son pouvoir dissolvant augmente en faveur des composés hydrosolubles. Le résidu est donc très complexe, comme le démontrent quelques essais rapides pratiqués après dissolution dans de l'eau distillée chaude:

— La recherche des sucres réducteurs par le réactif de Fehling indique leur présence en très faible quantité; par contre, la réduction après hydrolyse par ébullition en milieu acide est très accentuée. Nous pouvons

en déduire la présence d'une forte proportion de polyholosides ne portant pas de fonctions réductrices libres. Nous n'avons pas poussé plus loin, pour le moment, cette recherche, nous proposant de consacrer une étude approfondie aux sucres d'amandon (deuxième partie de ce travail).

— La ninhydrine donne une coloration violet foncé indiquant la présence d'acides aminés libres. Par contre, aucune des réactions classiques n'a permis de déceler la présence de protides.

— La recherche du phosphore est positive. Un dosage selon la méthode de J. CARLES a permis d'y déceler 0,08 à 0,092 % de phosphore après destruction de la matière organique.

— La présence de tanins est indiquée par la coloration brun violacé obtenue avec le perchlorure de fer.

f) *Etude de la phase intermédiaire.*

Les essais pratiqués sur cette fraction ont montré que, qualitativement au moins, elle a la même composition que la phase alcoolique délipidée, c'est à dire qu'elle contient, à l'état précipité, ce que la phase alcoolique a dissous. Ceci est parfaitement normal, la solubilité des sucres et des autres composés alcoolo-solubles étant plus élevée à chaud qu'à froid.

Il faut pourtant noter, de plus, que la réaction colorée de LIEBERMANN indique la présence d'une proportion importante de stérols.

D) EXTRACTION PAR L'ACÉTONE.

1) *Marche de l'extraction.*

L'emploi de l'acétone pour l'extraction des graines oléagineuses remonte à une date plus récente encore que celle de l'extraction par l'éthanol. Bien que l'on ait reconnu depuis longtemps ses propriétés dissolvantes (16), des raisons économiques en interdisaient l'emploi qui a été récemment envisagé soit comme agent de raffinage, soit comme agent d'extraction. L'acétone présente, en effet, un certain nombre d'avantages. Ne formant pas d'azéotrope avec l'eau, ce solvant peut être distillé d'autant plus facilement qu'il est très volatil (Eb. 56°). Il est stable, peu toxique, et chimiquement bien défini, contrairement aux essences d'extraction.

Le fractionnement de l'huile de colza par l'acétone entraîne sélectivement les glycérides des acides gras di- et triéthyléniques d'indice d'iode élevé qui ont tendance à se polymériser. On élimine en même temps les principes colorants et odorants, déterminant ainsi un raffinage de l'huile. L'huile résiduelle est enrichie en lécithines et sa teneur en matières insaponifiables est élevée (1).

Des essais systématiques effectués par M. LOURY (57) ont montré que si l'acétone contient 8 à 10 % d'eau, elle offre le même avantage de désacidification que l'éthanol, les glycérides y étant insolubles à froid tandis que les acides gras y sont parfaitement solubles. Ce solvant offre sur l'éthanol l'avantage de ne pas dissoudre sensiblement de sucres.

Nous avons opéré de la façon suivante: 400 g. d'amandons d'humidité voisine de 5 % sont broyés et introduits dans la cartouche de l'extracteur, l'extraction étant pratiquée pendant 10 heures de la façon habituelle avec 1 litre 1/2 d'acétone anhydre. Quand l'extraction est terminée, on ajoute de l'eau au miscella dans la proportion de 8 % du volume du solvant en tenant compte de l'eau d'humidité de la graine. Dans le cas présent, il a fallu ajouter 120 ml. — 20 = 100 ml. d'eau. On laisse alors refroidir et deux couches bien distinctes se séparent progressivement.

L'huile désacidifiée se trouve au fond du ballon. La phase solvant est distillée sous pression réduite et les lipides du résidu sont dissous dans l'éther de pétrole: l'évaporation de la solution éthéro-pétrolique fournit l'huile acide. Comme dans le cas de l'extraction par l'alcool, on obtient trois fractions qui se répartissent dans les proportions suivantes:

Huile neutre.....	33 %
Huile acide.....	3,5 %
Phase solvant délipidée.....	12 à 15 %

Le mécanisme de l'extraction par l'acétone ayant été décrit par les auteurs déjà cités, nous n'avons pas cru devoir analyser en détail la phase solvant, nous réservant l'examen de l'huile neutre qui nous préoccupait davantage. Remarquons simplement que la proportion de constituants non lipidiques de la phase solvant étant moindre que dans le cas de l'extraction alcoolique, le tourteau aura probablement une valeur alimentaire supérieure.

CARACTERES DE L'HUILE D'AMANDON EXTRAITE PAR L'ACETONE

(Huile neutre)

AMANDONS 1957-58

Rendement.....	33 %
Couleur.....	jaune d'or
Indice d'acide.....	0,6
Indice d'iode.....	90,3
Indice de saponification.....	180,6
% de matières insaponifiables.....	1,2 %

2 Discussion des résultats.

— L'huile extraite par l'acétone est comparable en tous points à celle provenant de l'extraction alcoolique: mêmes caractères physiques et chimiques, même acidité.

— Le rendement en huile utilisable est nettement supérieur, les seules pertes résultant de l'huile acide. Le pouvoir solvant de l'acétone vis à vis des lipides étant supérieur à celui de l'éthanol, il ne reste pas d'huile dans le tourteau. L'extraction est, en outre, deux fois plus rapide.

E) CARACTÈRES COMPARATIFS DES HUILES EXTRAITES PAR LES DIFFÉRENTS SOLVANTS (35).

A M A N D O N S 1957-1958

CARACTERES COMPARATIFS	S O L V A N T S			
	Ether de pétrole	Trichloréthylène	Ethanol (huile neutre)	Acétone (huile neutre)
Rendement.....	38,7 %	41,2 %	30,7 %	33 %
Couleur.....	jaune	jaune brun	jaune d'or	jaune d'or
Indice d'acide.....	1,2	0,9	0,6	0,6
Indice d'iode.....	86,5	88,3	91	90,3
Indice de saponification.	179,9	180	177,4	180,6
Matières insaponifiables.	1,5 %	1,6 %	1,1 %	1,2 %

L'observation des caractères des huiles extraites par les différents solvants montre que les huiles obtenues par épuisement au moyen d'éthanol ou d'acétone sont voisines des huiles de première pression. Les huiles extraites par l'éther de pétrole ou le trichloréthylène sont très acceptables si la matière première est épuisée rapidement. Elles deviennent au contraire rapidement très acides si ces conditions ne sont pas respectées. Par contre, même dans ce cas défavorable, les huiles d'extraction par l'alcool et l'acétone gardent leur valeur et, seul, le rendement est abaissé.

III

EXTRACTION PAR MICROBROYAGE A FROID.

La qualité d'une huile est en rapport direct avec la température à laquelle on la prépare; aussi des essais ont-ils été tentés en vue d'une extraction à froid. Mais le pouvoir de dissolution étant plus faible à froid qu'à chaud, il fallait, pour remédier à cet inconvénient, mettre le solvant directement au contact des lipides en brisant complètement les parois des cellules végétales. Ces conditions sont remplies lorsqu'on broie les graines au sein du solvant dans un appareil à couteaux multiples tournant à grande vitesse.

1.—EXTRACTION AU MOYEN D'UN BON SOLVANT DES LIPIDES.

Le mode opératoire est le suivant:

— 100 g. d'amandons sont grossièrement pulvérisés à sec. On introduit 200 ml. de solvant et on fait tourner les couteaux pendant trois minutes. L'ensemble du contenu du bol du "mixer" est immédiatement versé sur un filtre de Buchner en prenant soin de rincer le bol avec quelques ml. de solvant. Puis, le tourteau est rebroyé une deuxième fois avec 200 ml.

de solvant, enfin, une troisième fois avec 100 ml. Les trois fractions lipidiques sont distillées sous pression réduites et dans un courant de gaz inerte pour en chasser le solvant et les trois huiles résiduelles sont alors analysées.

Nous avons utilisé des amandons de la récolte 1957-1958 et l'extraction a été pratiquée après un long stockage, soit en juin 1959. Ces conditions ont volontairement été choisies très mauvaises pour mieux se rendre compte des avantages de la méthode.

Solvant ETHER DE PETROLE

NUMERO DES FRACTIONS	RENDEMENT	INDICE D'ACIDE
1.....	29 g	21,2
2.....	7,5 g	21,6
3.....	3 g %	
	39,5 g %	

Solvant TRICHLORETHYLENE

NUMERO DES FRACTIONS	RENDEMENT	INDICE D'ACIDE
1.....	33,5 g	21,3
2.....	5,5 g	21,4
3.....	1 g	
	40 g %	

2.—EXTRACTION AU MOYEN DE DEUX SOLVANTS UTILISÉS SUCCESSIVEMENT.

Nous avons ensuite cherché à mettre à profit le pouvoir de désacidification de l'éthanol. Pour cela, 100 g. de graines sont broyées pendant trois minutes avec 200 ml. d'alcool à 95°. Le tout est filtré comme précédemment et introduit dans une ampoule à décanter. Après quelques heures l'huile neutre qui constitue la couche inférieure est débarrassée des traces d'éthanol sous une atmosphère d'azote. On obtient ainsi la fraction n° 1. L'expérience a montré qu'un deuxième broyage en présence d'éthanol frais ne fournissait plus d'huile neutre.

Puis, deux broyages successifs sont faits avec, cette fois, un bon solvant des lipides (éther de pétrole ou trichloréthylène). On opère avec 200 ml. de solvant, puis avec 100 ml. seulement.

ALCOOL, PUIS ETHER DE PETROLE

NUMERO DES FRACTIONS	RENDEMENT	INDICE D'ACIDE
1 (alcool).....	13 g	4,2
2 (ét. pétr.).....	14 g	3
3 (»).....	2,5 g	3
	29,5 g %	

ALCOOL, PUIS TRICHLORETHYLENE

NUMERO DES FRACTIONS	RENDEMENT	INDICE D'ACIDE
1 (alcool).....	14 g	4,1
2 (tri.).....	10 g	4,3
3 (tri.).....	2 g	5,1
	26 g %	

On voit que cette méthode permet une désacidification appréciable quoiqu'incomplète. Des huiles qui étaient trop acides pour être neutralisables quand elles étaient obtenues à l'aide d'un seul solvant, deviennent utilisables si elles sont préparées par épuisement successif de la matière première au moyen d'éthanol, puis d'un bon solvant des lipides. Le rendement en huile est inférieur puisque l'alcool tient en dissolution les acides gras libres et, grâce à eux, une certaine quantité de glycérides.

IV

MISE EN EVIDENCE DES COMPOSES OXYDES DANS LES HUILES EXTRAITES PAR CES DIFFERENTES METHODES.

1.—PRINCIPE DE LA METHODE SPECTROPHOTOMETRIQUE.

Pour se rendre compte de l'état d'altération d'un corps gras, on a l'habitude de calculer son acidité et de déterminer sa teneur en "acides oxydés". Ce dosage exploite l'insolubilité des acides gras oxydés dans l'éther de pétrole permettant de les séparer des acides gras normaux (70). La méthode est longue et compliquée, et les résultats ne peuvent prétendre à une approximation supérieure à 10 %. L' "indice de peroxydes", bien que peu significatif et non officiel, est encore en usage dans certains laboratoires (54); il consiste à mettre l'huile à analyser au contact d'iodure de potassium; en milieu acétique, celui-ci est oxydé quantitativement par les peroxydes de l'huile, on dose ensuite l'iode libéré.

Ces méthodes d'examen sont peu reproductibles, et elles ne donnent pas une image fidèle de l'état d'altération d'une huile. C'est pourquoi on s'oriente plutôt à l'heure actuelle vers des mesures spectrophotométriques. En 1935, J. GUILLON remarquait, en effet, que les huiles vierges sont plus transparentes en lumière ultra-violette que les huiles raffinées (41). Mettant à profit ces premières observations, J.-P. WOLFF a mis au point le mode opératoire d'une méthode qui paraît plus sensible et plus fidèle (89).

Sous l'influence de l'oxygène de l'air, et dans un premier stade de l'oxydation des huiles, apparaissent des hydroperoxydes à doubles liaisons conjuguées. La formation de ces liaisons éthyléniques conjuguées conduit à une augmentation sensible de l'absorption dans la région de 232 mμ. Par la suite, pour des raisons encore incomplètement définies, des réactions secondaires marquent le processus de l'oxydation. Elles entraînent la décomposition spontanée des peroxydes avec apparition de corps absorbant à 270 m. Il s'agit sans doute de composés cétoniques encore mal connus

portant des liaisons éthyléniques conjuguées et qui se concentrent dans les fractions appelées "acides oxydés" définies dans l'analyse des graisses. Ces réactions secondaires sont d'autant plus importantes que l'acidité de l'huile est plus élevée et que la température d'oxydation augmente.

L' "indice de peroxydes" ne mesure qu' un stade provisoire de l'oxydation puisqu'il ne tient pas compte des réactions de dissociation des peroxydes. Au contraire, plus l'absorption spécifique d'une huile à 270 $m\mu$. est élevée, plus cette huile est altérée, quelle que soit l'origine de l'altération (graines oléagineuses avariées ou stockées trop longtemps, mauvaises conditions d'extraction ou de conservation de l'huile). De même, le rapport R des absorptions à 232 et 270 $m\mu$. est d'autant plus faible que l'huile a moins de valeur.

2.°—MODE OPÉRATOIRE.

Pour l'examen spectrophotométrique, l'huile est mise en solution dans du cyclohexane purifié pour qu'il soit optiquement vide jusqu'à 225 $m\mu$. Nous avons utilisé du cyclohexane pur Prolabo qui nous a donné toute satisfaction et qu'il a été inutile de purifier préalablement. Bien entendu, à chaque livraison nouvelle nous vérifions que le solvant est bien optiquement vide dans les limites d'utilisation de l'ultra-violet. Au cas où l'on ne disposerait pas d'un tel solvant, la purification doit s'opérer de la façon suivante: on agite le cyclohexane avec de l'acide sulfurique à 66° Baumé, on laisse décanter, puis on lave avec de l'eau jusqu'à neutralité constatée au bleu de bromophénol. Après séchage sur du sulfate de sodium anhydre, le cyclohexane est passé sur une colonne de 30 cm. de haut d'Actigel (silicagel) pulvérisé pour le débarrasser des dernières traces de solvants éthyléniques qu'il peut contenir.

La concentration de la solution doit être telle que la loi de Beer-Lambert soit respectée, ce qui correspond à une densité optique comprise entre 0,10 et 0,80. Pour que les résultats soient plus sûrement reproductibles et comparables, nous avons opéré avec des concentrations uniformes de 0,1 % pour l'examen à 232 $m\mu$, et 1 % pour l'examen à 270 $m\mu$. Dans quelques cas seulement, lorsque l'absorption spécifique à cette dernière longueur d'onde était trop élevée, nous avons dû diminuer la concentration.

Pratiquement, nous avons opéré de la façon suivante: on pèse au dixième de mg. près 100 mg. d'huile que l'on dissout dans 10 ml. de cyclohexane pur, ce qui fournit une solution à 1 %; celle-ci servira à l'examen à 270 $m\mu$. Une dilution au dixième est alors pratiquée pour l'examen à 232 $m\mu$ (0,5 ml de la solution à 1 % et 4,5 ml. de cyclohexane).

Pour la détermination de la densité optique, nous avons utilisé un spectrophotomètre électronique "Maroc" de JOBIN & YVON, muni de cuves rectangulaires de silice "Corasi", d'une épaisseur de 1 cm.

Dans tous les cas, les valeurs lues en densité optique sont ramenées à

une concentration de 1 % de façon à connaître le coefficient d'absorption K, le rapport R est celui des coefficients d'absorption à 232 et 270 mμ.

$$R = \frac{K_{232}}{K_{270}}.$$

Quelques exemples feront aisément comprendre ce calcul:

1. Cas d'une huile extraite de la coque du noyau d'olive par l'éther de pétrole: elle est très altérée. Pour l'examen à 270 mμ, nous avons donc dû faire une dilution à 0,2 % pour que la loi de Beer soit respectée (20 mg. d'huile dans 10 ml. de cyclohexane).

Densité optique de la solution à 0,2 %..... 0,52
Coefficient K d'absorption à 270 mμ..... $0,52 \times 5 = 2,60$

2. Cas d'une huile d'amandon extraite par pression.

Densité optique à 270 mμ (solution à 1 %) = 0,15
 $K_{270} = 0,15.$
Densité optique à 232 mμ (solution à 0,1 %) = 0,475
 $K_{232} : 0,475 \times 10 = 4,75$
 $R = \frac{K_{232}}{K_{270}} = \frac{4,75}{0,15} = 31 .$

3.°—APPLICATION AUX HUILES D'AMANDON.

Afin de nous rendre compte de la valeur des huiles d'amandon, nous avons appliqué systématiquement cette méthode d'étude aux divers échantillons.

1. *Influence du stockage de la matière première.*

EXTRACTION PAR L'ETHER DE PETROLE - AMANDONS DE LA RECOLTE 1956-1957					
	Rendement	I. Å.	K 232	K 270	R
Extraction immédiate.....	38 %	2,3	2,25	0,31	7,2
Extraction après 1 an.....	31,5 %	15,6	2,38	0,41	5,8

En même temps qu'une diminution du rendement en huile, on constate une augmentation de son acidité et de son coefficient d'absorption à 270 m μ , ainsi qu'un abaissement du rapport R. Comme on pouvait s'y attendre, une altération sensible se produit au cours du stockage dont la durée devra par suite être réduite autant que possible.

2. Influence des conditions d'extraction.

MATIERE PREMIERE	MÉTHODE D'EXTRACTION	INDICE D'ACI- DE	K. 232	K. 270	R
AMANDONS 56-57..... (Extraction immédiate)..	Ether de pétrole.....	2,3	2,25	0,31	7,2
	Ethanol (décantation).....	0,4			
AMANDONS 56-57..... (Extraction après un an).	Ether de pétrole.....	15,6	2,38	0,41	5,8
	Ethanol.....	0,6	1,93	0,35	6,1
	1ère. pression.....	3,4	3,02	0,26	11,5
	2ème. pression.....	11,6	2,5	0,6	4,1
	Huile résiduelle (E. P.).....	31,5	3,36	1,24	2,6
AMANDONS 57-58..... (Extraction immédiate)..	Trichloréthylène (extr. après 1 an)	0,9	9,5	0,79	12
	Ether de pétrole.....	1,2	2,08	0,29	7,1
	Ethanol.....	0,6	2,03	0,27	7,5
	1ère. pression.....	0,6	1,76	0,13	13,3
	2ème. pression.....	1,5	2,61	0,56	4,6
	Huile résiduelle.....	4	3,79	1,21	3,1

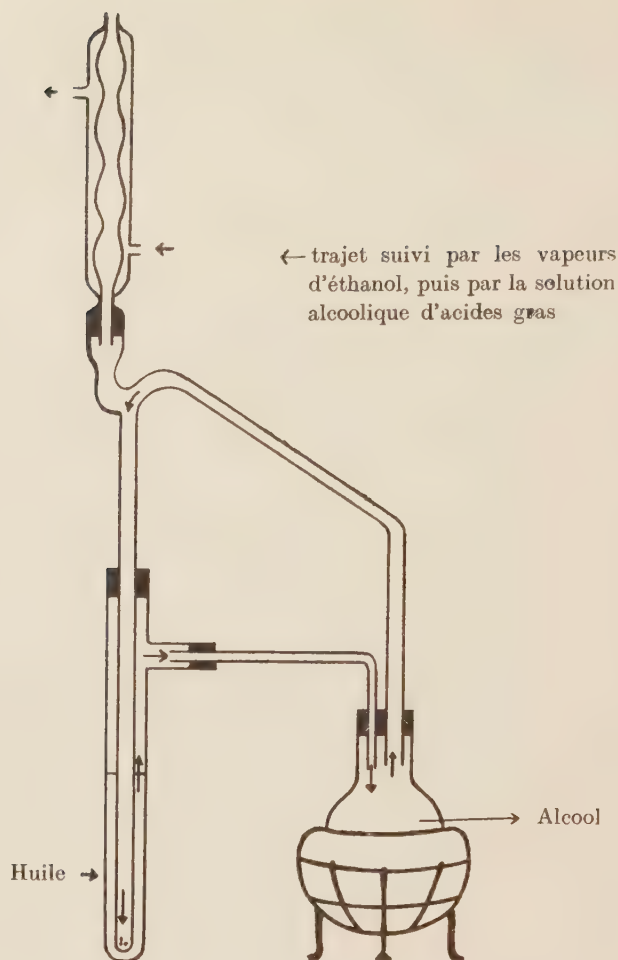
A) Les huiles d'extraction par solvants.

Les huiles d'extraction à chaud par le trichloréthylène, l'éther de pétrole et l'éthanol ont des coefficients d'absorption à 270 m μ assez élevés et des rapports R faibles compris entre 5,8 et 7,5. Ces résultats sont parfaitement en accord avec ceux qui sont obtenus dans l'extraction des autres graines oléagineuses par les mêmes procédés. Ils ne permettent pas de conclure à une tendance particulière de l'amandon à l'oxydation.

Les huiles d'extraction par l'éthanol quoique très peu acides ont une teneur en cétones presque aussi élevée que celle des huiles d'extraction par l'éther de pétrole.

$$\begin{aligned} K\ 270 &= 0,27 - 0,35 \text{ (extraction par l'alcool).} \\ &0,29 - 0,41 \text{ (extraction par l'éther de pétrole).} \end{aligned}$$

On pourrait en conclure que les composés oxydés ne sont que peu solubles dans l'alcool froid et restent dans l'huile neutre. Pour vérifier cette hypothèse, une huile d'amandon, extraite par le trichloréthylène dans de très mauvaises conditions, a été soumise à un épuisement par l'éthanol dans un extracteur liquide-liquide:



On obtient successivement la première fraction soluble dans l'alcool après quatre heures, la deuxième fraction après huit heures, l'huile restante constituant la troisième fraction.

	K 232	K 270	R
Huile totale.....	2,95	1,06	2,8
1ère. fraction.....	7,5	3,2	2,3
2ème. fraction.....	4,7	0,91	5,1
3ème. fraction.....	5	0,48	10,4

On peut par ce traitement abaisser le coefficient K 270 de 1,06 à 0,48. Il semble pourtant que l'on ne puisse pas éliminer complètement de l'huile les composés absorbant dans la région de 270 m μ . L'hydrolyse et l'oxydation des glycérides d'une graine oléagineuse reposent sur des données différentes. Sous l'action des diastases lipolytiques, les triglycérides sont

hydrolysés et des acides gras libres apparaissent au bout d'un certain temps. L'oxydation due à l'oxygène de l'air sous l'action des oxydases porie sur les acides gras libres qui s'oxydent environ dix fois plus vite que les triglycérides (46), mais également sur ces derniers. Une huile altérée contient donc des acides oxydés solubles dans l'alcool comme les autres, mais aussi des glycérides à chaînes oxydées qui y sont insolubles. Ceci expii- que la présence de constituants absorbant à 270 m μ dans l'huile neutre, c'est pourquoi aussi la différence d'absorption des huiles extraites par l'éthanol et par l'éther de pétrole est d'autant plus importante que l'huile est plus acide.

B) *Les huiles de pression.*

L'examen du tableau suivant permet de se rendre compte de l'influen- ce de la température à laquelle est exercée la pression sur la qualité de l'huile.

EXTRACTION PAR PRESSION - AMANDONS 58-59 IMMEDIATEMENT APRES LE CONCASSAGE			
	K. 232	K. 270	R
Pression continue (42-44°).....	2,06	0,39	5,3
Pression hydraulique Olier-250 kg.:			
Broyage normal 70° (2 pressions).....	1,8	0,3	6
Broyage normal 50° (2 —).....	2,4	0,39	6,2
Broyage poussé 50° (2 —).....	2,55	0,32	8
Broyage normal 30° (2 —).....	2,05	0,2	10
Amandons entiers 30° en 1ère. pression + broya- ge normal en 2ème. pression.....	2,2	0,2	11
Pression hydraulique labo (300 kg.):			
1ère. pression à froid.....	1,61	0,14	11,5
2ème. pression (60°).....	1,72	0,18	9,5

La valeur de l'absorption ultra-violette croît avec la température. C'est la raison pour laquelle les huiles de pression hydraulique sont plus trans- parentes que celles qui procèdent de la pression continue.

Les huiles de première pression hydraulique préparées à froid sont toujours très peu absorbantes si la matière première est saine. Elles pou- vent, dans tous les cas, être comparées aux huiles d'olive vierges pour lesquelles le coefficient K. 270 varie de 0,13 à 0,20 en fonction des condi- tions particulières de l'année de production.

3.—*Influence du stockage des huiles.*

Avant de conclure à la valeur alimentaire et technique de l'huile d'aman- don, nous avons voulu savoir comment elle se comporte au cours du stoc- kage. A. UZZAN affirme, en effet, que l'huile d'amandon a de fortes cons- tantes spectrophotométriques et qu' "elle acquiert très vite un taux de pe- roxydes très élevé, indice d'une très grande aptitude à l'oxydation" (84). Il semble, toutefois, qu'il n'ait pas été tenu compte des conditions d'ex- traction dans cette détermination.

Toutes nos huiles ont été conservées dans des conditions identiques,

dans des bouteilles de verre blanc non complètement remplies, fermées par un bouchon de liège et placées dans une armoire à l'abri de la lumière.

EXTRACTION EN MAI 1958

	1ère. PRESSION HYDRAULIQUE I. A. = 0,6			2ème. PRESSION HYDRAULIQUE I. A. = 1,5		
	K 232	K 270	R	K 232	K 270	R
Mai 1958.....	1,76	0,13	13,5	2,6	0,56	6,6
29 mai 1959.....	7	0,24	29	6,4	0,55	11,6
1 ^{er} juillet 1959.....	7,5	0,25	30	—	—	—
28 octobre 1959.....	9,3	0,28	33	6,5	0,62	10,5
15 février 1960.....	14,7	0,67	21,9	11	0,9	12,2

EXTRACTION EN MARS 1959

	1ère. PRESSION HYDRAULIQUE I. A. = 0,3			2ème. PRESSION HYDRAULIQUE I. A. = 0,5			PRESSION CONTINUE I. A. = 0,4		
	K 232	K 270	R	K 232	K 270	R	K 232	K 270	R
Mars 1959.....	1,61	0,14	11,5	1,72	0,18	9,5	2,06	0,39	5,3
29 mai 1959.....	4,75	0,15	31	6	0,22	23,6	2,7	0,44	5,5
1 ^{er} juillet 1959..	6,3	0,21	30	7,1	0,3	23,6	2,7	0,44	6,1
28 octobre 1959.	6,6	0,23	28	8,7	0,31	28	3,65	0,49	7,4
15 février 1960..	10,8	0,55	19,6	10,2	0,6	17	7	0,84	8,3

a) *L'absorption à 270 m μ des huiles de première pression hydraulique s'accroît faiblement pendant les premiers mois de leur stockage, puis plus rapidement par la suite, sauf pour l'huile de la récolte 1957-1958 pour laquelle elle passe seulement de 0,13 à 0,28 en 18 mois. Pour juger de l'importance de cet accroissement, nous l'avons comparé à celui qui caractérise les huiles de pression les plus recherchées, les huiles d'olive et les huiles d'amande douce.*

Au cours du stockage, le coefficient K. 270 des huiles d'olive vierges augmente de 0,03 à 0,06 par an pour les bonnes années, et bien davantage pour les mauvaises années. C'est ainsi que des huiles de la récolte 1952-1953 ont révélé une valeur moyenne de K. 270 variant de 0,26 à 0,40 en février 1954. En ce qui concerne les huiles d'amande douce, K. 270 s'accroît au cours du stockage et passe entre le début et la fin de la campagne de production, c'est-à-dire en quelques mois, de 0,08-0,12 à 0,18-0,22, pouvant même atteindre 0,30 dans certains cas (90).

Tous ces chiffres se rapportent à des huiles correctement stockées, à l'abri de l'air (flacons remplis) et à température aussi voisine que possible de + 4°. Nos conditions de stockage étant beaucoup moins favorables, nous avons examiné à titre de comparaison quelques huiles d'olive et quelques huiles d'amande conservées de la même manière.

	K. 232	K. 270	R
HUILE D'AMANDE DOUCE «CODEX» A:			
Après 1 an de stockage.....	5,2	0,52	10
Après 18 mois.....	6,3	0,67	9,1
HUILE DE NOYAU «CODEX»:			
après 1 an de stockage.....	5,95	0,67	8,8
après 18 mois.....	6,2	0,75	8,2
HUILE D'AMANDE DOUCE-B:			
Octobre 1959.....	2,05	0,1	20,5
Février 1960.....	3,85	0,125	30,8
HUILE D'OLIVE VIERGE-A:			
après 1 an de stockage.....	5,25	0,4	13,1
HUILE D'OLIVE VIERGE-B:			
après 1 an de stockage.....	5,5	0,5	10

Nous constatons que l'huile d'amandon ne s'altère pas plus rapidement que l'huile d'olive ou l'huile d'amande.

b) *L'absorption à 232 m μ* croît assez vite dans de grandes proportions. Il se pourrait que cette oxydation peroxydique soit due aux conditions particulières de stockage, d'autant plus qu'une oxydation identique quoique légèrement moins importante est constatée sur les huiles d'amandes et de noyaux.

c) *Le rapport R* augmente avec le temps, alors que suivant l'auteur de la méthode, il devrait diminuer en fonction de l'altération. Ce phénomène que nous retrouvons identique pour l'huile d'amande douce est dû à la disproportion entre l'accroissement des oxydations peroxydique et cétonique. Nous pensons donc qu'il faut exprimer certaines réserves quant à la signification de ce rapport pour la détermination de la qualité des huiles.

4.—Conclusions.

En résumé, nous pouvons tirer de cette étude les résultats suivants.

— Les glycérides de l'huile d'amandon d'olive sont sensibles à l'action des ferments oxydants. L'oxydation est importante et rapide si les conditions d'extraction ne sont pas soigneusement fixées de la façon suivante: séparation totale des débris de coques dont la proportion ne doit pas dépasser 3 % des amandons (le problème est industriellement résolu); utilisation rapide de la matière première dont l'humidité devra être inférieure à 5 %; extraction par pression immédiatement après une éventuelle pulvérisation. L'influence de la température étant primordiale, on doit opérer de préférence à froid, en tout cas il ne faut pas dépasser 40° C.

— Ces conditions étant fixées, les huiles de première pression hydraulique sont comparables aux huiles d'olive vierges et sont très voisines des huiles d'amande douce dont elles sont plus proches que des huiles de noyau

d'abricot. Elles se conservent bien si elles sont correctement stockées. On peut donc prévoir leur emploi alimentaire et même pharmaceutique.

La valeur des huiles de pression continue n'atteint pas celle des huiles de pression hydraulique, mais les premiers essais peuvent certainement être encore améliorés et le problème a beaucoup de chances de se trouver résolu pour peu que l'on s'y attache. Certaines presses sont, en effet, munies d'un système de refroidissement permettant d'abaisser à volonté la température de l'opération. Il paraît bien établi que si l'on accepte de ne retirer de la matière première que 75 à 80 % de l'huile qu'elle contient, celle-ci possède des caractères très voisins de ceux de l'huile de pression hydraulique. L'huile résiduelle réservée à un usage moins noble, peut être extraite par une seconde pression ou par solvant.

Nos observations, tant au laboratoire qu'en usine expérimentale, permettent d'envisager favorablement la production d'une huile alimentaire ou même pharmaceutique, dans des conditions techniquement très satisfaisantes dont l'avenir dira si elles sont économiquement viables.

C H A P I T R E 5

COMPARAISON DES HUILES D'AMANDON AUX HUILES D'AMANDE ET DE NOYAU DU CODEX.

A côté de l'huile d'amande douce qui est, par définition, une huile de première pression hydraulique obtenue à froid à partir des semences d'*Amygdalus communis variété dulcis*, la pharmacopée française a inscrit "l'huile de Noyau". L'huile d'amandes de noyaux officinale est une huile de première pression à froid soigneusement clarifiée. Les espèces qui la fournissent appartiennent à la famille des Rosacées: abricotier, amandier, pêcher, prunier. Elle est très voisine de l'huile d'amande douce dont elle se distingue par la très vieille réaction colorée de BIEBER (4). Celle-ci consiste à agiter cinq parties d'huile avec une partie d'un mélange à parties égales et refroidi d'acide sulfurique, d'acide nitrique fumant et d'eau distillée. Avec l'huile d'amande douce, on obtient une émulsion blanchâtre et le liquide acide qui se sépare reste incolore. Avec l'huile de noyau, la mélange est marron-rougeâtre.

La fluidité assez grande de l'huile d'amandon par rapport à celle de l'huile d'olive, et ses caractères organoleptiques voisins de ceux des huiles d'amandes de Rosacées nous encourageaient à pousser plus loin une étude comparative. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant.

NATURE DES HUILES — CARACTERES	Huile d'amande douce	Huile de noyau	Huile d'amandon 1ère. pression hydr.
	Jaune pâle-limpide, ne déposant pas même par repos prolongé.	id.	id.
D ⁴ ₂₀	0,913 - 0,918	0,913 - 0,920	0,915
n ₂₀ D	1,4708 - 1,473	1,4708 - 1,4723	1,470
α D	0	0	0
Viscosité à 20°	73 à 76	68,2	76,3
Acidité en ac. oléique	< 0,50 %	< 2 %	0,15 %
Indice d'iode (1)	92 à 99	92 à 108	89,9 à 91,1
» de saponification	190 - 194	190 - 194	190
Matières insaponifiables	< 0,50 %	< 1 %	1,1 %
Absorption K. 270	< 0,20		0,13 à 0,15
	Huiles désamérisées = 1,5		
Composition en acides gras.	Ac. saturés 5- 7 % » linoléique 6-20 % » oléique 60-80 %		Ac. saturés 9,6 % » linoléiq. 10-15 % » oléique 70-75 %
Point de solidification	Ne doit pas se troubler à temp. supér. à —10°	id.	Commence à se troubler à —8°5

(1) La méthode de détermination de l'indice d'iode qui est inscrite au Codex n'est pas celle de Wijs, mais celle de Hanus. Les chiffres obtenus par ces deux techniques étant classiquement considérés comme comparables, nous avons préféré utiliser la méthode normalisée.

L'huile d'amandon de première pression hydraulique donne avec le mélange sulfonitrique de **BIEBER**, une émulsion presque incolore, la couche huileuse qui se sépare est colorée en jaune très clair.

Les huiles d'amande douce sont essentiellement constituées par des glycérides oléique et linoléique, la proportion de glycérides concrets étant très faible. Elles sont donc très fluides et pénètrent bien dans la peau. L'huile d'amandon est très légèrement plus riche en acides saturés (2 à 3 % en plus), elle se trouble à température un peu supérieure bien qu'elle reste limpide bien en-dessous de zéro degré. La viscosité est proche de celle des huiles d'amande, mais bien inférieure à celle des huiles d'olive (80 à 95). La principale différence réside dans la teneur plus élevée en matières insaponifiables et surtout en squalène que ne contiennent pas les huiles d'amandes de Rosacées.

La ressemblance très poussée entre les huiles d'amandon d'olive et les huiles d'amande de Rosacées permet d'envisager leur utilisation dans la dermatologie cosmétique et pharmaceutique.

TROISIÈME PARTIE

LES TOURTEAUX

Alors que la seule utilisation des fruits et des graines oléagineuses était, autrefois, l'huile que l'on pouvait en extraire, l'évolution économique a conduit depuis la fin du siècle dernier à valoriser les tourteaux. Tandis que sur le plan industriel, on s'apercevait des avantages que l'on pouvait tirer de ce sous-produit de l'huilerie, de nombreux mémoires se sont succédé concernant ses diverses applications dans l'alimentation ou comme engrais (22-25), et nous sommes loin maintenant du temps où les résidus inutilisés de la fabrication de l'huile de coton étaient abandonnés en montagnes artificielles autour des huileries d'Amérique.

En plus des lipides qu'on y trouve en faible quantité, les tourteaux sont notamment riches en protides, glucides, sels minéraux et vitamines (47). La détermination de la valeur alimentaire des différents tourteaux a permis d'en faire une classification reposant sur leur richesse en protides inversement proportionnelle au taux de cellulose non assimilable (6). Plus un tourteau sera riche en protides, plus il sera recherché. Cette notion est pourtant insuffisante, et il faut y ajouter celle d'équilibre des amino-acides, l'absence d'un ou de plusieurs amino-acides indispensables aux animaux entraînant une diminution de la valeur du tourteau. Il importe de même de distinguer, parmi les glucides, les sucres assimilables à forte valeur énergétique (sucres et amidons) et les substances cellulosiques.

Nous avons déjà fait remarquer que les méthodes d'extraction des huiles peuvent être très variées: à chacune d'entre elles, correspond un type de tourteau. Il est évident, en effet, que certains solvants manifestent une activité vis-à-vis d'autres substances que les lipides, et, par là, deviennent capables de modifier la composition chimique du tourteau résiduel. Les tourteaux d'extraction par l'alcool, se sont révélés plus riches en protides; ceci justifierait qu'ils soient d'ordinaire préférés (48). Nous verrons qu'il en est de même pour l'amandon d'olive.

Nous étudierons successivement la composition globale des tourteaux d'amandon extraits par les différents solvants: éther de pétrole, alcool et acétone (que cette extraction se fasse directement sur les amandons ou qu'elle suive un déshuilage partiel par pression). Nous comparerons les résultats obtenus avec les caractères des tourteaux habituellement utilisés, puis nous nous attacherons plus particulièrement à l'étude des glucides et des protides.

CHAPITRE 1

COMPOSITION GLOBALE DES TOURTEAUX D'AMANDON

1.° MÉTHODES D'ANALYSE UTILISÉES.

Dosage de l'eau (65).

On pèse exactement un poids voisin de 5 g. de tourteau dans un cristalliseur de verre Pyrex que l'on introduit dans une étuve réglée à 103 — 105° C. Après trois heures, on laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse. Puis on porte de nouveau dans l'étuve pendant une heure. Si l'écart entre les deux pesées successives ne dépasse pas 5 mg., le dosage est terminé. Dans le cas contraire, on poursuit l'étuvage jusqu'au moment où cette condition est réalisée.

$$\text{Humidité \%} = \frac{\text{perte de poids} \times 100}{\text{poids de la prise d'essai}}$$

Dosage des lipides.

On pèse 10 g. de tourteau que l'on introduit dans la cartouche d'un appareil de Soxhlet et l'on extrait la totalité de l'huile par de l'éther de pétrole. Il faut généralement quatre à cinq heures d'extraction pour arriver à ce résultat. La solution éthéro-pétrolique est distillée au bain-marie et sous pression réduite, et le résidu est pesé au milligramme près.

Dosage des cendres (Matières minérales).

5 g. de tourteau sont calcinés lentement dans un four à moufle à la température de 550° C jusqu'à l'obtention de cendres blanches exemptes de charbon. On pèse après refroidissement de la capsule dans un dessiccateur.

Dosage de l'azote et des protides.

Le dosage de l'azote total a été effectué selon la méthode classique de Kjeldahl en utilisant l'appareil de Parnas et Wagner.

Réactifs.—Acide sulfurique concentré à 66° B^e

Lessive de soude à 36° B^e

Solution d'acide sulfurique N/10

Indicateur: alizarine sulfonate de sodium

Catalyseur de Dumazet (sélénite de Hg + SO₄KH).

Mode opératoire.—Une prise d'essai de 130 à 140 mg. de tourteau est introduite dans un matras dans lequel on ajoute successivement 300 mg. de catalyseur et 3 ml. d'acide sulfurique concentré. Le matras, surmonté d'un petit entonnoir, est chauffé sous une hotte avec une petite flamme pendant 5 minutes, puis plus fort jusqu'à décoloration complète du liquide.

Le contenu du matras, refroidi et dilué avec 2 ml. d'eau distillée, est transvasé dans l'appareil à distiller de Parnas et Wagner, en ayant soin de rincer trois fois le matras avec un peu d'eau.

On place un becher contenant 10 ml. d'acide sulfurique $N/_{10}$ et deux gouttes d'indicateur de sorte que l'allonge de l'appareil à distiller plonge dans l'acide. Puis, on introduit dans l'appareil 15 ml. de lessive de soude et on laisse passer la vapeur d'eau. Les vapeurs ammoniacales sont entraînées, se condensent dans le réfrigérant, et neutralisent progressivement l'acide titré. Quand la distillation est terminée, on dose l'acide libre en excès par $NaOH\ N/_{10}$ jusqu'à coloration violette. Soit n ml. de soude versée et p g. le poids de la prise d'essai de tourteau; la quantité d'azote, pour 100 g. de tourteau et exprimée en grammes, se calcule suivant la formule:

$$\frac{(10 - n) \times 0,0014 \times 100}{p}$$

Teneur en protéines.—La teneur en protéines est donnée empiriquement en multipliant le taux d'azote total par le facteur 6,25. Ce mode de calcul n'est qu'une approximation puisqu'il est rapporté aux matières protéiques pures et que les végétaux renferment de l'azote non protéique. On devrait donc utiliser pour chaque tourteau un facteur de conversion différent en rapport avec sa composition azotée. Le chiffre de 6,25 est cependant en usage pour les déterminations officielles.

Dosage de la cellulose.

Par convention, on appelle cellulose le résidu insoluble après hydrolyses acide et alcaline du tourteau.

Mode opératoire.—2 g. de tourteau pesés avec précision sont hydrolysés par 200 ml. d'acide sulfurique à 1 g. 25 % à l'ébullition sous réfrigérant ascendant pendant trente minutes. Le contenu du ballon est centrifugé et on soumet le résidu à des lavages à l'eau bouillante suivis d'une centrifugation jusqu'à disparition de l'acidité des eaux de lavage.

On détache le résidu des tubes à centrifuger avec 100 ml. d'eau chaude et on ajoute 100 ml. de solution aqueuse de soude à 2 g. 50 %. On fait bouillir pendant trente minutes, on centrifuge et on lave le résidu jusqu'à absence d'alcalinité. On le sèche alors dans l'étuve à 105° C jusqu'à poids constant.

$$\text{Cellulose \%} = \left(\frac{P \times 100}{\text{poids de la prise d'essai}} \right) - \text{cendres \%}$$

Les méthodes officielles d'étude des tourteaux déterminent l'eau, les lipides, les protides, la cellulose et les cendres. La différence entre la somme de ces constituants et le poids du tourteau analysé constitue "l'ex-

tractif non azoté" qui, en principe, devrait correspondre aux glucides assimilables. En réalité, le chiffre obtenu est beaucoup trop élevé et une partie du ballast cellulosique s'y trouve compris. C'est pourquoi GUILLEMET et JACQUOT (38) ont proposé la détermination directe des glucides assimilables exprimés en réducteur total et la mesure de l' "indice formique" ou insoluble formique représentant l'indigestible glucidique.

Dosage des sucres assimilables.

On prélève 25 g. de tourteau que l'on épuise par trois fois 100 ml. d'alcool à 60°. La solution alcoolique est distillée sous pression réduite et l'extract obtenu est dissous dans 100 ml. d'eau distillée. Après hydrolyse par de l'acide sulfurique pendant une heure à la température du bain-marie bouillant, on dose les sucres réducteurs totaux par la méthode cuprométrique de G. BERTRAND. On exprime le taux de sucres réducteurs totaux pour 100 g. de tourteau.

Détermination de l'indice formique.

La substance pulvérisée est mise à digérer pendant une heure dans un bain-marie bouillant avec de l'acide formique à 80-85 % en agitant de temps en temps. On centrifuge et on soumet l'insoluble à des lavages à l'acide formique bouillant, puis trois ou quatre fois à l'eau bouillante. Le résidu est transvasé dans une capsule et séché dans l'étuve. On retranche du poids résiduel celui des substances minérales déterminées par incinération.

2.°) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES TOURTEAUX OBTENUS PAR DIFFÉRENTS PROCÉDÉS.

De couleur jaune-brun, les tourteaux de pression se présentent en écailles s'ils ont été obtenus par pression continue, en gâteaux durs et compacts s'ils proviennent de presses hydrauliques. Les tourteaux d'extraction par solvants sont, au contraire, très clairs, blanc-gris pour l'éther de pétrole et l'acétone, de couleur chamois pour l'éthanol. Ils présentent une saveur amère, sauf lorsque l'huile a été extraite par l'alcool. Les rendements en tourteau obtenus à partir de 100 g. d'amandons par les divers modes d'extraction sont les suivants:

Extraction par l'éther de pétrole.....	65 %
Extraction par l'alcool.....	42 %
Extraction par l'acétone.....	52 %

Ces chiffres sont très différents par suite de la dissolution par l'alcool et l'acétone de substances non lipidiques qui restent dans la phase solvant.

3.° DÉTERMINATION DES DIFFÉRENTS GROUPES DE PRINCIPES IMMÉDIATS CONSTITUANT LES TOURTEAUX.

La composition chimique de trois tourteaux préparés à partir du même lot d'amandons à l'aide des trois solvants usuels se répartit ainsi:

	Ether de pétrole 10h	Ethanol 20h	Acétone 10h
Eau.....	4,8 %	8,4 %	6,1 %
Cendres.....	3,2	5,3	4
Lipides.....	1	13	7
Protides (N $\times$ 6,25).....	36,4	51	43,1
Cellulose brute.....	7	10,2	8,5
Extractif non azoté.....	47,6	7,3	31,3
Réducteur total.....	18	1,5	9,4
Indice formique.....	16,9	15,3	20,6

A) Teneur en glucides.

Elle varie beaucoup avec le tourteau considéré. Complètement insolubles dans l'éther de pétrole, les sucres sont partiellement extraits par l'acétone et presque complètement dissous par l'alcool. A la température à laquelle est pratiquée l'extraction, l'éthanol dont le titre est abaissé par suite de l'humidité des graines a, en effet, un pouvoir dissolvant très prononcé vis-à-vis des sucres. Quant à l'acétone, si elle ne les dissout pas lorsqu'elle est anhydre, la facilité avec laquelle elle est miscible à l'eau lui permet de pénétrer dans les cellules végétales, de se mêler à l'eau d'hydratation des graines et d'entraîner les sucres hydrosolubles. Il n'y aurait qu'une dissolution insignifiante si l'on travaillait avec de l'acétone anhydre et des amandons parfaitement séchés.

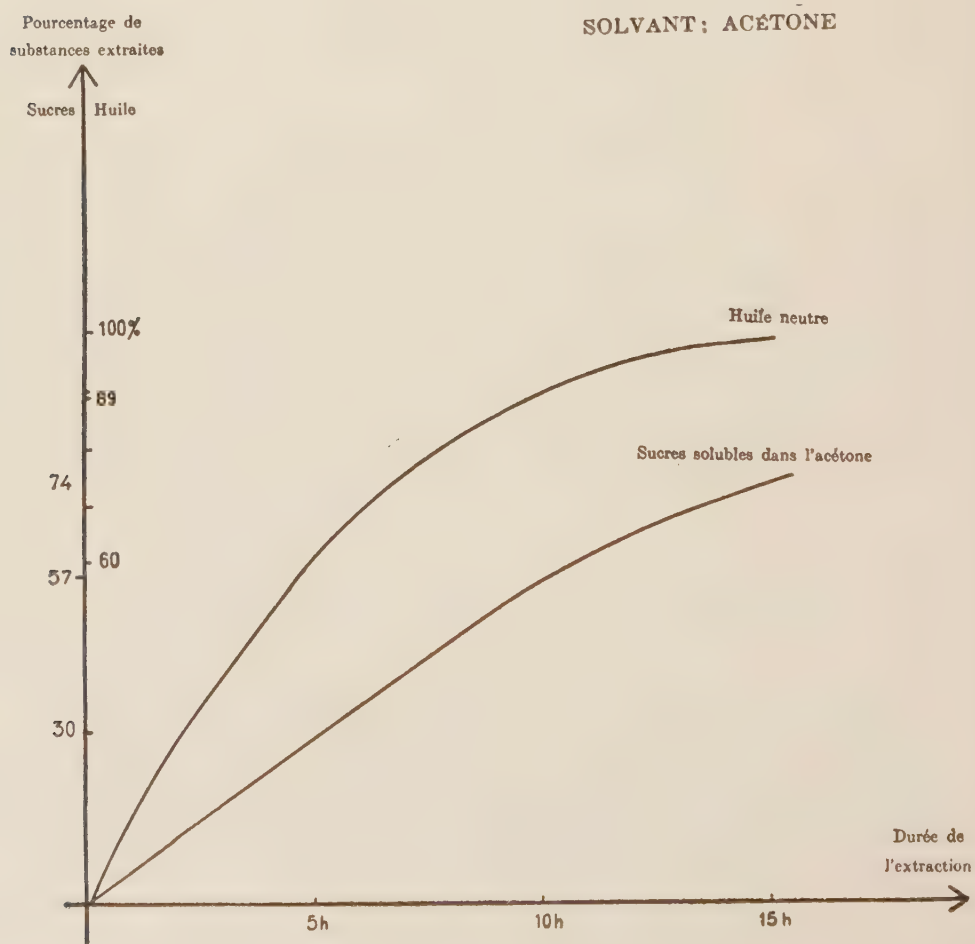
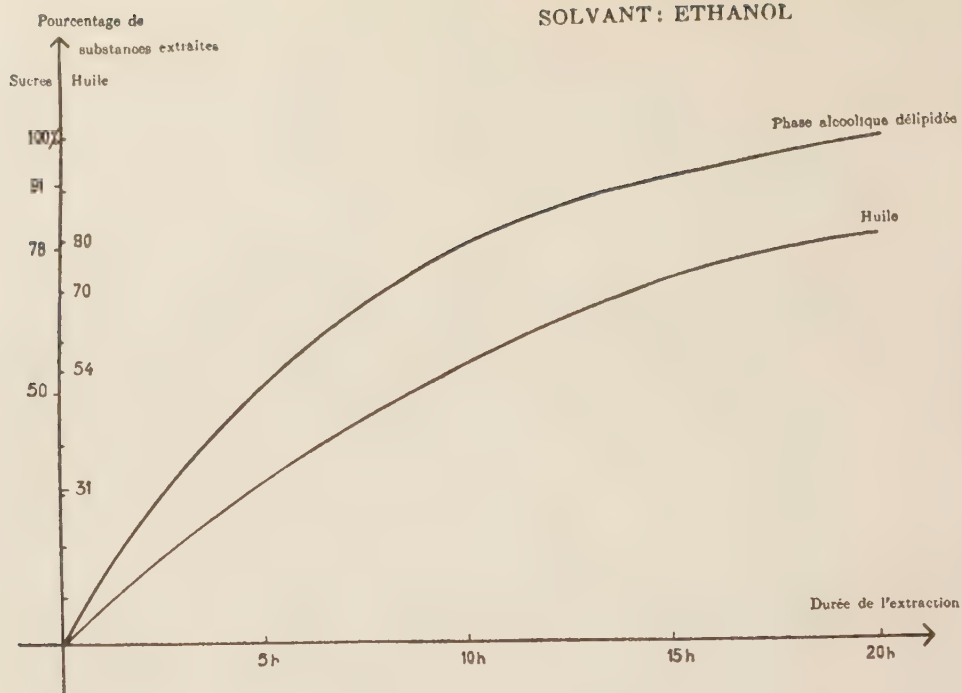
L'observation du mécanisme des extractions acétonique et alcoolique montre que les sucres sont plus solubles que l'huile dans l'alcool, tandis que les lipides sont entraînés plus rapidement par l'acétone. Nous avons construit les courbes exprimant le pourcentage de lipides extraits et de substances non lipidiques solubles dans la phase solvant (correspondant surtout aux glucides) en fonction de la durée de l'extraction par l'alcool et l'acétone. Un pourcentage de 100 % d'huile représente l'extraction totale des 37 % d'huile contenue dans les amandons. Pour les sucres, nous avons pris comme référence de 100 % le pourcentage maximum de phase alcoolique délipidée obtenue, soit 26 g. %.

On voit qu'après dix heures d'extraction, on a extrait :

Par l'alcool..... { 50 % de l'huile
78 % des sucres

Par l'acétone..... { 89 % de l'huile
57 % des sucres

Si l'on veut obtenir un rendement en huile satisfaisant, il est indispensable de poursuivre l'extraction alcoolique pendant une durée telle que l'on prive le tourteau des sucres assimilables. Au contraire, en diminuant la durée de l'extraction par l'acétone, on peut enrichir le tourteau en sucres tout en ne réduisant que peu le rendement en lipides.



La disproportion entre le réducteur total et l'extractif non azoté est due surtout à la présence de tanins. Seul le tourteau extrait par l'alcool n'en contient que très peu. C'est là sans doute un avantage: l'amertume du tourteau est ainsi supprimée, en même temps que la valeur protidique augmente puisque par compensation la teneur en protides est plus élevée.

B) *Teneur en protides.*

C'est elle, surtout, que l'on considère pour juger de la valeur alimentaire d'un tourteau. Nous la comparerons donc à celle des principaux tourteaux utilisés couramment pour l'alimentation du bétail.

T O U R T E A U X	PROTIDES % DU POIDS SEC	CATEGORIE (1)
Coton décortiqué.....	50 - 55	(A)
Arachide décortiquée.....	48 - 56	Aliments riches
Tournesol.....	48 - 53	
Soja.....	45 - 50	
Colza.....	32 - 36	(B)
Sésame.....	35 - 40	Aliments moyens
Lin.....	30 - 35	
Arachide partiellement décortiquée.....	30	
Coton non décortiqué.....	20 - 25	(C)
Coprah.....	20 - 22	Aliments médiocres
Palmiste.....	15 - 20	
<i>Amandons:</i>		
Ether de pétrole.....	37,2	B
Alcool.....	55,6	A
Acétone.....	45,8	A

(1) D'après R. JACQUOT (page 7).

On peut classer les tourteaux extraits par l'alcool et l'acétone parmi les aliments riches et le tourteau d'extraction par l'Essence B parmi les meilleurs aliments moyens.

4.°) CONCLUSION CONCERNANT LA VALEUR ALIMENTAIRE DES TOURTEAUX D'AMANDON.

Chacun des trois tourteaux peut, en résumé, être caractérisé de la façon suivante:

<i>Ether de pétrole</i>	{	Valeur protidique très satisfaisante. Richesse en sucres assimilables. Présence de tanins.
<i>Acétone</i>	{	Bonne valeur protidique. Teneur moyenne en sucres. Présence de tanins. Faible teneur en lipides.

En diminuant la durée de l'extraction, on rapproche cette composition de celle du tourteau d'extraction par l'éther de pétrole bien que la teneur en lipides reste supérieure.

<i>Alcool</i>	{	Excellente teneur protidique. Richesse assez grande en lipides. Pauvreté en sucres assimilables. Absence de tanins amers.
---------------------	---	--

Les caractères du tourteau d'extraction par l'éthanol en déterminent la supériorité, sauf si l'on cherche à introduire dans l'alimentation des sucres assimilables. Il ne semble pas que cet inconvénient soit majeur, certains tourteaux usuels ne sont pas plus riches en sucres. Il est, en outre, possible d'introduire de nouveau dans le tourteau les constituants non lipidiques de la phase solvant s'ils se révèlent indispensables.

Il est évident que la composition des tourteaux de pression se déduit de celle des tourteaux extraits par l'éther de pétrole, compte tenu de leur richesse plus grande en lipides, ce qui abaisse d'autant la teneur en protides et en glucides.

CHAPITRE 2

ETUDE PARTICULIERE DES GLUCIDES

Au cours de l'étude de l'extraction alcoolique de l'huile d'amandon, notre attention avait déjà été attirée par la proportion importante de substances solubles dans la phase solvant; les dosages des glucides assimilables ont confirmé par la suite la présence d'une grande quantité de ceux-ci dans les tourteaux. La connaissance de la composition en holosides et en hétérosides présente un intérêt théorique et pratique certain; il est indispensable, en effet, de savoir si les tourteaux ne contiennent pas d'hétéroside toxique, en particulier d'hétéroside générateur d'acide cyanhydrique.

1.^o RÉACTIONS D'IDENTIFICATION DES SUCRES.

Les essais d'identification des sucres ont été pratiqués sur une solution préparée et purifiée de la façon suivante: la poudre obtenue par broyage des amandons au "mixer" est déshuilée dans un appareil de Soxhlet au moyen d'éther de pétrole; on l'épuise ensuite par de l'alcool à 60° bouillant sous réfrigérant à reflux et on évapore la solution alcoolique sous pression réduite et à basse température. Le résidu est dissous dans le minimum d'eau distillée et le filtrat est ensuite déféqué par de l'extrait de Saturne, l'excès de plomb étant éliminé par de l'acide sulfurique dilué. On neutralise immédiatement l'acidité libre par la quantité nécessaire de carbonate de calcium et, après filtration, on évapore à sec en prenant les précautions d'usage. Le résidu est épuisé par de l'alcool à 95° bouillant qui dissout uniquement le bloc glucidique, le solvant est chassé par distillation et l'extrait résiduel est enfin repris par de l'eau distillée.

Les essais suivants ont été effectués:

1. *Pouvoir réducteur.*

La solution possède un faible pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur de Fehling. Après hydrolyse par l'acide chlorhydrique à l'ébullition, la réduction est au contraire très marquée.

2. *Réaction de Séliwanoff.*

Elle indique la présence de cétooses (fructose libre ou combiné sous forme de saccharose ou d'un polyholoside plus complexe). On obtient, en effet, une coloration rouge vif caractéristique en chauffant au bain-marie la solution sucrée avec une solution chlorhydrique de résorcine.

3. *Recherche des pentoses.*

Elle est négative avant comme après hydrolyse des sucres. On verse

doucement le long de la paroi du tube contenant la solution sucrée 2 ml. de β naphthol dissous dans l'acide sulfurique concentré. Aucun anneau bleu n'apparaît à la surface de séparation.

4. Recherche du galactose.

Dix ml. de solution sucrée sont concentrés à volume réduit et additionnés d'acide nitrique. On évapore au bain-marie pour chasser l'excès d'acide et on reprend par de l'eau distillée. Il ne se forme pas de précipité blanc d'acide mucique caractéristique du galactose.

5. Recherche du saccharose (réaction de Papasogli).

5 ml. de solution sucrée sont additionnés de trois gouttes de nitrate de cobalt à 5 % et de trois gouttes de soude. La coloration violette obtenue est caractéristique du saccharose.

6. Préparation des osazones.

Deux opérations ont été pratiquées en utilisant dans chaque cas des réactifs différents. Le réactif employé habituellement est une solution acétique de phénylhydrazine préparée ainsi:

Chlorhydrate de phénylhydrazine.....	10 g.
Acide acétique glacial.....	10 ml.
Eau distillée à.....	100 ml.

Cette solution est acide; elle hydrolyse donc le saccharose et les polyholosides qui peuvent exister dans le mélange à analyser. Pour remédier à cet inconvénient, on prépare un réactif non hydrolysant dont la composition est la suivante:

Chlorhydrate de phénylhydrazine.....	10 g.
Acétate de sodium.....	15 g.
Eau distillée à.....	100 ml.

On mélange des volumes égaux de réactif et de solution sucrée et on chauffe pendant trente minutes dans un bain-marie bouillant. Au bout d'un certain temps, apparaissent des cristaux jaunes insolubles à chaud. On sort les deux tubes de l'eau et on filtre avant que les solutions ne soient complètement refroidies. Il n'apparaît plus de cristallisation à froid.

L'examen des cristaux au microscope montre que les osazones sont exclusivement constituées par la glucosazone. Ils se présentent en branches de genêt caractéristiques avec le réactif acide et en grains de mimosa accompagnés de petits faisceaux avec la solution non hydrolysée. Cette forme de cristallisation est normale lorsque le glucose se trouve à faible concentration (24).

7. Recherche du mannitol.

Le mannitol est un hexitol abondant dans la pulpe de l'olive. Nous l'avons recherché dans les amandons de la façon suivante: 25 g. de poudre d'amandons déshuilée et desséchée sont introduits dans un ballon avec de

l'alcool à 95°. On fait bouillir pendant une demi-heure sous un réfrigérant ascendant et on filtre le liquide bouillant. La mannite insoluble dans l'alcool froid devrait se déposer par refroidissement. Dans notre cas, la solution alcoolique est toujours restée limpide même par repos prolongé au réfrigérateur. Nous concluons donc à l'absence de mannitol.

Ces divers essais semblent indiquer la présence dans les amandons d'un sucre réducteur à l'état libre (glucose ou fructose) et d'un holoside hydrolysé en milieu acide en glucose et fructose. Ce dernier pourrait être du saccharose.

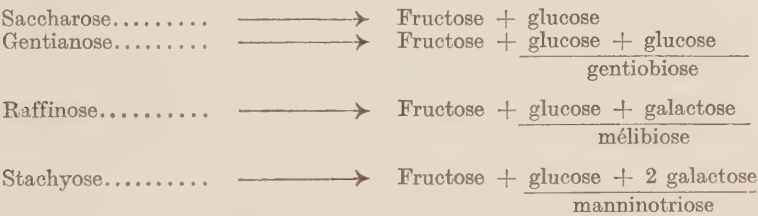
2.° RECHERCHE DES HOLOSIDES ET DES HÉTÉROSIDES PAR LA MÉTHODE BIOCHIMIQUE DE BOURQUELOT.

A) Principe de la méthode.

La méthode biochimique d'identification des sucres a permis depuis 1901 d'élucider la composition glucidique de nombreux végétaux, ainsi que de découvrir de nouveaux glucosides. Elle repose sur l'utilisation de deux ferments hydratants, l'invertine ou sucrase de la levure et l'émulsine des amandes, dont on met à profit les propriétés dédoublantes. On fait agir successivement ces deux ferments sur la solution sucrée que l'on étudie (10).

1. L'invertine.

L'invertine, ou sucrase, dédouble les polyholosides non réducteurs qui présentent à l'extrémité de leur chaîne une molécule de lévulose. Elle agit particulièrement sur le saccharose ainsi que sur certains polyholosides plus complexes comme le gentianose, le raffinose, le stachyose, en leur arrachant une molécule de fructose selon le schéma suivant:



Les récents travaux de J. E. COURTOIS et de ses collaborateurs ont mis en évidence l'existence de galactosides du saccharose, homologues supérieurs du stachyose (trigalactoside ou verbascose du bouillon blanc, tétragalactoside ou ajugose, etc...). Ces polysaccharides sont transformés en galactosides du glucose correspondants avec élimination d'une molécule de fructose par hydrolyse acide ménagée ou par hydrolyse fermentaire sous l'action de l'invertine (26).

Dans tous les cas, la mise en liberté du fructose s'accompagne de l'apparition d'un pouvoir réducteur et l'examen polarimétrique de la solution sucrée montre qu'il y a eu un déplacement de la rotation vers la gauche. Si l'on mesure la rotation avant et après l'hydrolyse diastasique, on voit que la quantité de sucre réducteur apparue pour une déviation de la rotation vers la gauche de 1 degré est caractéristique de chaque holoside. BOURQUELOT a défini l'indice enzymolytique comme "le nombre de mg. de

produits réducteurs, exprimés en glucose, formés dans 100 cm³ de solution sous l'influence de l'invertine pour un changement de déviation de 1° observé au tube polarimétrique de 2 dm". Cet indice est égal à 603 pour le saccharose.

2. *L'émulsine.*

Ce ferment hydrolyse les β glucosides lévogyres avec apparition d'une molécule de glucose dextrogyre. Il y a retour de la déviation polarimétrique vers la droite et augmentation du pouvoir réducteur. On détermine de la même façon que précédemment l'indice enzymolytique caractéristique de chaque glucoside.

L'émulsine n'est pas absolument spécifique car elle est en réalité un mélange de plusieurs ferments. On y trouve un peu de sucrase, de l' α galactosidase, de la manninotriase, de la gentiobiase et d'autres enzymes encore. Si la solution sucrée contient l'un des sucres dédoublables par ces ferments, on assiste à un déplacement de la rotation vers la gauche continuant celui qui était dû à l'action de l'invertine, et non plus à un retour vers la droite comme dans le cas des β glucosides.

Quelques exemples expliqueront l'action successive des deux ferments.

(1).—*Cas d'une solution de stachyose.*

a) — avec l'invertine, le stachyose se dédouble en fructose et en manninotriose. Il y a apparition d'un pouvoir réducteur et déplacement de la déviation polarimétrique vers la gauche.

b) — avec l'émulsine, la manninotriase hydrolyse le manninotriose en glucose et galactose. La solution continue à provoquer la déviation de la lumière polarisée vers la gauche et le taux de sucre réducteur augmente.

(2).—*Cas d'un mélange de saccharose et d'un β glucoside.*

a) — saccharose + invertine $\longrightarrow$ glucose + fructose. Il y a déplacement de la déviation vers la gauche et apparition d'un pouvoir réducteur.

b) — β glucoside + émulsine $\longrightarrow$ glucose + aglycone. On assiste au retour de la déviation vers la droite et à l'augmentation du pouvoir réducteur.

(3).—*Cas d'un mélange de stachyose et d'un β glucoside.*

L'action de l'émulsine est double: les changements de rotation ayant lieu dans le sens contraire, il devient alors très difficile, sinon impossible, d'identifier les sucres par cette méthode. Il arrive, cependant, que les deux actions diastasiques se propagent à des vitesses différentes. On a, dans ce cas, un retour de la déviation vers la droite suivi d'un recul vers la gauche. Nous verrons que nous nous sommes précisément trouvée dans ce cas.

B) *Techniques et modes opératoires suivis.*

a) *Préparation des enzymes.*

L'INVERTINE.

Plusieurs méthodes ont été préconisées. Nous avons utilisé celle de BOURQUELOT (11).

De la levure haute fraîche (levure de boulanger) est délayée dans un mortier avec de l'alcool à 95°. On la laisse en contact avec huit fois son poids d'alcool pendant 12 à 15 heures. Puis on essore à la trompe sur un entonnoir de Büchner et on lave le résidu sur le filtre avec de l'alcool à 95°, puis de l'éther sulfurique. On sèche un moment à l'étuve à 30° C puis dans un dessiccateur à vide. La poudre obtenue doit être conservée à l'abri de l'humidité dans un flacon bien bouché.

L'ÉMULSINE.

Nous l'avons préparée selon la technique de HÉRISSEY (43).

100 g. d'amandes douces sont plongées pendant une minute dans de l'eau bouillante, égouttées, mondées puis pilées dans un mortier. On laisse macérer le produit obtenu dans 200 ml. d'un mélange à parties égales d'eau distillée et d'eau chloroformée saturée. Après 24 heures de macération, le mélange est passé avec expression à travers une toile serrée. On lui ajoute dix gouttes d'acide acétique cristallisable pour précipiter la caséine, puis après une décantation de quelques heures, on filtre sur un filtre de papier mouillé.

Le filtrat est précipité par addition de 500 ml. d'alcool à 95°. On laisse décanter pendant une nuit et le précipité d'émulsine est recueilli sur un filtre mouillé. On le lave avec un mélange d'alcool et d'éther, puis on dessèche dans un exsiccateur à vide, garni d'acide sulfurique.

b) *Préparation des solutions sucrées.*

Afin d'éviter une hydrolyse provoquée par les ferments contenus dans les amandes, la matière première a d'abord été stabilisée selon la technique de BOURQUELOT. Pour ce faire, 150 g. d'amandons frais et en bon état, sont projetés dans cinq fois leur poids d'alcool à 80° bouillant contenant un peu de carbonate de calcium destiné à neutraliser les acides organiques éventuels. On opère lentement pour ne pas interrompre l'ébullition de l'alcool, celle-ci est prolongée pendant trente minutes sous réfrigérant ascendant. On filtre après refroidissement; les amandons sont séchés à douce température (inférieure à 40° C), broyés dans un mixer et épuisés dans un appareil de Soxhlet par de l'éther de pétrole afin d'éliminer toute trace de lipides. Après un nouveau séchage, le tourteau est mis au contact de l'alcool ayant servi à la stabilisation et l'ébullition est maintenue pendant trente minutes. Cette opération est renouvelée trois fois avec, chaque fois, 750 ml. d'alcool frais afin d'extraire totalement les substances glucidiques. Toutes les solutions alcooliques sont ensuite réunies, filtrées et distillées sous pression réduite et dans une atmosphère d'azote jusqu'à consistance d'extrait mou. Ce dernier est repris par de l'eau thymolée jusqu'à l'obtention de 150 ml. de liqueur dont 1 ml. correspond à 1 g. d'amandons.

c) *Opération d'hydrolyse et calcul des indices enzymolytiques.*

1) On prélève 20 ml. de solution auxquels on ajoute 10 ml. de sous-acétate de plomb liquide. Le filtrat est examiné au polarimètre, tandis qu'on y dose les substances réductrices par la méthode de G. BERTRAND.

2) Le reste de la solution est additionné de 1 % d'invertine et placé dans l'étuve à 30°C, le ballon étant soigneusement bouché. Le mélange est agité fréquemment et on suit de jour en jour l'action hydrolysante du ferment par la lecture polarimétrique et le dosage des substances réductrices. On opère sur 10 ml. de solution déféqués par 5 ml. d'extrait de Saturne dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment. Quand la composition ne varie plus, on tue le ferment en immergeant le ballon hermétiquement clos dans un bain-marie bouillant pendant quinze minutes.

3) Après refroidissement, ce qui reste de la solution est filtré et additionné d'émulsine (0,5 g. %); on place le ballon dans l'étuve et on mesure à intervalles réguliers le pouvoir réducteur et la déviation polarimétrique jusqu'à ce qu'il n'y ait plus aucune variation.

On détermine par le calcul les différents indices enzymolytiques. La plupart des indices des holosides et des hétérosides connus ont été déterminés (66). Il suffit de s'y reporter.

C) Les résultats obtenus.

La solution soumise à l'action de l'invertine ne subit plus aucune modification de sa composition chimique après cinq jours de contact.

Après adjonction d'émulsine, nous avons déterminé la déviation polarimétrique tous les jours. On observe tout d'abord un retour vers la droite accompagné d'une augmentation de sucres réducteurs dont le maximum se situe après quatre jours. Puis, tandis que le taux de sucres réducteurs continue à augmenter lentement, on observe une déviation vers la gauche, celle-ci devient maximale après trois semaines de contact.

Liqueur primitive:

Sucre réducteur.....	0,68 g %	—
Déviation (tube de 2 dm).....	—	— 12° 32'
Après invertine (5 jours).....	3,28 g %	— 31° 8'
Après émulsine (4 jours).....	3,64 g %	— 27° 47'
Après émulsine (3 semaines).....	7 g %	— 48° 36'
Après hydrolyse acide.....	10 g 3 %	—

1. <i>Invertine</i> .—Augmentation de pouvoir réducteur.....	3,28 — 0,68	= 2,6 g
Recul de la déviation vers la gauche.....	1.868 — 752	= 1.116'
Indice de réduction.....	2.600 mg × 60	= 140
	1.116	

2. <i>Emulsine</i> (4 jours).—Augmentation de pouvoir réducteur...	3,64 — 3,28	= 0,36 g
Retour vers la droite.....	1.868 — 1.667	= 201'
Indice de réduction.....	360 × 60	= 107
	201	

3. <i>Emulsine</i> (3 semaines).—Augmentation de pouvoir réducteur.....	7 — 3,64	= 3,36 g
Recul vers la gauche.....	2.916 — 1.667	= 1.249'
Indice de réduction.....	3.360 × 60	= 161
	1.249	

D) Interprétation des résultats.

1. La solution sucrée est assez fortement lévogyre. Puisque par définition 1 ml. de la liqueur correspond à 1 gramme d'amandons, il y a 0,68 g. de sucre réducteur exprimé en glucose pour 100 g. d'amandons.

2. L'invertine dédouble un polyholoside possédant une molécule de fructose en bout de chaîne (indice enzymolytique égal à 140). Il est impossible de conclure à la présence de saccharose dont l'indice théorique est égal à 603. Le chiffre très bas de 140 peut s'expliquer par l'apparition par dédoublement non seulement de lévulose, mais aussi d'une substance complexe peu ou pas réductrice mais très lévogyre. On peut aussi soupçonner la présence d'un polyholoside de poids moléculaire élevé que l'on pourrait comparer aux galactosides étudiés par J. E. COURTOIS. Si l'on considère, en effet, un tri et un pentagalactoside du saccharose, on voit apparaître sous l'action de l'invertine une molécule de fructose et le tri ou le pentagalactoside du glucose correspondant portant toujours un seul groupement réducteur dû au glucose. Le poids moléculaire du pentagalactoside est beaucoup plus élevé, son indice enzymolytique diminue donc dans les mêmes proportions. La présence de ces galactosides dans les amandons semble devoir être éliminée puisque nous n'avons pas pu caractériser le galactose, il n'est pas impossible cependant que les polyholosides présents soient analogues.

3) L'action de l'émulsine est double.

—elle hydrolyse tout d'abord un β glucoside dont l'indice de réduction est égal à 107. Il est probable qu'il s'agit de l'oleuropoeoside que BOURQUELOT et VINTILESCO ont mis en évidence dans le mésocarpe de l'olive et dont l'indice enzymolytique théorique est égal à 117 (40). Toutefois, il est impossible d'en être certain avant de l'avoir extrait et purifié. En outre, l'amandon d'olive ne contient pas de glucoside cyanogénétique.

— lorsque l'action sur l'hétéroside est terminée, on assiste à un retour de la déviation vers la gauche. Ce phénomène, dû à l'une des diastases multiples existant dans l'émulsine, confirme la présence d'un sucre complexe déjà soupçonnée par l'observation de l'hydrolyse par l'invertine.

4) L'hydrolyse enzymatique n'est pas complète puisque l'hydrolyse acide conduit à une teneur en sucres réducteurs plus élevée.

Ces diverses constatations nous amènent à tenter une extraction du polyholoside dont les caractères permettront peut-être alors son identification, ainsi qu'à isoler l'hétéroside présent dans les amandons.

3.°—TENTATIVES D'EXTRACTION DU POLYHOLOSIDE.

Après avoir stabilisé et déshuilé les amandons selon la méthode déjà décrite, les sucres ont été extraits par des épuisements répétés au moyen d'alcool à 60°. Après évaporation de l'alcool, le résidu est repris par de l'eau distillée, puis le filtrat est additionné de sous-acétate de plomb liquide jusqu'à précipitation complète des substances non glucidiques; nous avons toujours été frappée par le volume considérable d'extrait de Saturne qu'il fallait ajouter pour que cette précipitation soit totale. Même après ce traitement, la solution glucidique reste nettement colorée en jaune. L'excès de plomb est ensuite éliminé par de l'acide sulfurique dilué, l'acidité libre étant neutralisée par du carbonaie de calcium. Le filtrat est alors réparti en plusieurs fractions sur lesquelles divers essais ont été tentés:

A) *Essais directs de cristallisation.*

Après en avoir chassé l'acide acétique provenant de la décomposition du sous-acétate de plomb par agitation avec de l'éther éthylique, une partie de la liqueur sucrée est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est repris par le minimum d'éthanol à 95° bouillant et le filtrat est abandonné au repos dans le réfrigérateur. Aucune cristallisation ne se produit, seul un léger dépôt coloré en jaune se forme au fond du ballon.

B) *Méthode d'extraction "à la baryte" de CH. TANRET (82).*

La solution aqueuse de glucides est saturée au mortier par de l'hydroxyde de baryum. Après filtration, on ajoute à la liqueur trois volumes d'alcool à 95°. Le précipité blanc ocre qui se forme est recueilli sur un entonnoir de Büchner et mis en suspension dans de l'eau distillée. On y fait barboter un courant de gaz carbonique et on filtre pour éliminer le précipité de carbonate de baryum. La solution obtenue est fortement colorée en jaune, elle provoque une rotation de la lumière polarisée vers la gauche. Après évaporation de l'eau, le résidu est repris par de l'alcool à 95° bouillant et la liqueur est abandonnée au repos comme dans le cas précédent. Là encore, nous n'avons obtenu aucune cristallisation.

C) Dans l'impossibilité d'obtenir le polyholoside à l'état cristallisé, nous avons utilisé une variante de la méthode de CH. TANRET appliquée par J. E. COURTOIS à l'isolement des galactosides du saccharose des racines de bouillon blanc (44).

Les combinaisons barytiques des glucides, préparées selon le même mode opératoire que précédemment, sont décomposées par de l'acide sulfurique dilué en revenant à la neutralité par du carbonate de calcium. On porte la liqueur à l'ébullition, on filtre, puis le filtrat est additionné de trois volumes d'éthanol absolu. Après avoir laissé le mélange pendant 24 heures au réfrigérateur, on recueille le précipité floconneux qui est tombé au fond du récipient et on le sèche dans un dessiccateur à vide sulfurique.

La poudre obtenue est de couleur ocre, très hygroscopique, de saveur amère, ce qui nous fait croire que malgré l'élimination plombique que nous avons fait subir aux solutions, les sucres sont encore souillés d'impuretés. Son pouvoir rotatoire est lévogyre ($\alpha_D = -4^\circ$). Elle n'est pas réductrice vis-à-vis de la liqueur de Fehling mais, par contre, son pouvoir réducteur est élevé après hydrolyse acide. Dépourvue de galactose, seuls le glucose et le fructose ont pu y être mis en évidence (glucosazone; réaction de Séliwanoff).

Dans l'impossibilité où nous nous trouvons d'identifier avec certitude les polyholosides de l'amandon, nous nous proposons de reprendre par la suite ce travail en appliquant des méthodes plus précises et notamment des techniques chromatographiques. Les constatations que nous avons pu faire nous font cependant supposer la présence de saccharose accompagné de tanins pyrocatechiques dont il est très difficile de le séparer. L'élimination plombique n'est, en effet, jamais totale, et l'amertume et la coloration jaune semblent confirmer l'existence de faibles quantités de ces tanins dans les solutions sucrées. Celle-ci entraîne des modifications du pouvoir

rotatoire qui devient lévogyre et empêche toute cristallisation spontanée du saccharose.

4.° EXTRACTION ET IDENTIFICATION DE L'HÉTÉROSIDE.

A) *Étude historique.*—*Caractères et propriétés de l'oleuropoeoside.*

Appliquant la méthode biochimique aux feuilles d'olivier, BOURQUELOT et VINTILESCO furent les premiers, en 1908, à caractériser un glucoside amer présent également dans les jeunes olives et l'écorce des rameaux d'olivier (12). Abondant dans le mésocarpe des olives quand le noyau tout petit n'est pas encore bien formé, l'oleuropoeoside disparaît à maturité (13). C'est une substance amorphe soluble dans l'alcool, peu soluble dans l'éther; de pouvoir rotatoire spécifique voisin de -127° , il réduit faiblement la liqueur de Fehling en solution aqueuse, et plus fortement, après hydrolyse enzymatique par l'émulsine ou après hydrolyse acide.

Peu de temps après, POWER et TUTIN montrent que la substance isolée par BOURQUELOT n'est pas pure (75).

En 1934, CRUESS et ALSBERG utilisent un autre mode d'extraction et obtiennent une substance pure et bien caractérisée (27). Les olives sont épuisées par de l'eau bouillante, l'extrait aqueux étant déshuilé après refroidissement, puis concentré sous vide jusqu'à consistance de sirop. Ce dernier est additionné de cinq fois son volume d'acétone anhydre, filtré puis évaporé sous vide presque à sec. Cette opération est renouvelée plusieurs fois pour éliminer le plus possible de substances insolubles ou peu solubles dans l'acétone. Le dernier résidu d'évaporation de l'acétone est repris par de l'eau, neutralisé par de la baryte, et additionné de sulfate d'ammonium. On précipite alors le glucoside par le sous-acétate de plomb, on décompose le précipité par l'hydrogène sulfuré et on évapore la solution. Le résidu est purifié par dissolution dans l'acétone anhydre, reprécipitation par l'oxyde d'éthyle, cette opération étant répétée jusqu'au moment où le pouvoir rotatoire du glucoside ne varie plus. Le précipité est ensuite desséché.

L'oleuropoeoside ainsi purifié est une substance amorphe, blanc-crème, de saveur très amère, soluble dans l'éthanol, l'acétone, l'eau chaude, soluble à 4 % dans l'eau à la température ordinaire, peu soluble à froid dans l'éther acétique, insoluble dans les solvants des lipides. Elle réduit la liqueur de Fehling, son pouvoir rotatoire varie de -145 à -148° ; elle précipite de ses solutions aqueuses par le sous-acétate de plomb. Par ébullition dans l'eau, on obtient une résine insoluble, un phlobaphène identique à ceux des tanins pyrocatechiques. L'hydrolyse acide ou l'hydrolyse enzymatique sous l'action de l'émulsine des amandes conduit à de l' α D glucose et à une substance amère insoluble dans l'eau et l'éther et donnant les réactions colorées des pyrocatechols. L'invertine de la levure est sans action.

L'extrait total de la feuille d'olivier possède une action physiologique marquée due pour une part importante à l'oleuropoeoside. Ses propriétés vasodilatatrices et hypotensives justifient son emploi dans la thérapeutique (28).

B) *Extraction et purification.*

Nous avons utilisé la méthode d'extraction générale des glucosides de HÉRISSEY (45) employée avec succès par P. JARDON pour l'extraction de l'oleuropoeoside des feuilles d'olivier (49).

700 g. d'amandons de récolte récente ont tout d'abord été stabilisés entiers dans de l'alcool à 80° bouillant. Pour cela, les amandes ont été projetées dans l'alcool et l'ébullition a été prolongée pendant trente minutes sous réfrigérant ascendant. Après filtration, les amandons sont séchés dans l'étuve à température inférieure à 40° C, pulvérisés, puis épuisés successivement dans un appareil de Soxhlet par de l'éther de pétrole, puis par de l'éther éthylique afin d'éliminer les lipides et le plus possible de pigments. La poudre d'amandons déshuilée et séchée est épuisée par trois fois 1 litre 1/2 d'alcool à 95° bouillant. Les extraits alcooliques auxquels on a joint le liquide de stabilisation sont concentrés sous vide et le sirop obtenu est repris par 100 ml. d'eau chaude.

Après avoir déterminé sur 5 ml. de solution la quantité de sous-acétate de plomb liquide nécessaire pour que la défécation soit totale, on ajoute un léger excès de ce réactif à l'ensemble de la solution; il a fallu 160 ml. La bouillie obtenue est additionnée de 160 g. de sulfate de sodium, puis triturée dans un mortier avec du carbonate de calcium jusqu'à prise en masse. Celle-ci est placée dans l'étuve à 37° C jusqu'à poids constant (10 jours).

Le mélange est réduit en poudre et celle-ci introduite dans une cartouche de Soxhlet et épuisée pendant quinze heures par 1 litre 1/2 d'éther acétique. Par refroidissement, des croûtes blanchâtres se déposent au fond du ballon. On concentre sous vide la solution éthérée colorée en jaune en prenant soin de laisser un petit volume de solvant pour maintenir les pigments en solution. On recueille le résidu blanc et le précipité apparu au cours de la concentration, et l'ensemble est soumis à une purification. Celle-ci consiste à reprendre par de l'alcool à 95° chaud, à filtrer après refroidissement de la solution, puis à évaporer à sec cette dernière. Le résidu est repris par de l'acétone; cette série d'opérations est renouvelée jusqu'au moment où tout est devenu soluble à froid dans l'acétone.

Finalement, la solution acétonique est évaporée à sec; le résidu est repris par le minimum d'alcool à 95°. On ajoute dix volumes d'éther sulfurique et on recueille, par centrifugation, le précipité blanc qui est séché dans un dessiccateur à vide.

C) *Identification du glucoside extrait.*

1) *Propriétés physiques.*

Le produit obtenu est une poudre jaune clair, amorphe, très amère, soluble dans l'alcool à 95°, l'acétone, l'eau. Elle présente un pouvoir rotatoire lévogyre ($\alpha_D = -132^\circ$).

2) Réactions d'identification.

On obtient une coloration rouge avec l'acide sulfurique concentré, jaune avec la soude, verte avec le perchlorure de fer en solution diluée. La poudre réduit faiblement la liqueur de Fehling. Ces réactions ne sont pas spécifiques; nous avons donc soumis le produit d'extraction à des opérations d'hydrolyse.

3) Hydrolyse par l'émulsine des amandes.

0,201 g. de glucoside sont dissous dans 20 ml. d'eau distillée. On mesure la déviation polarimétrique de la solution (— 80 minutes au tube de 10 cm) et on constate qu'elle réduit très faiblement la liqueur de Fehling.

On l'additionne alors d'émulsine et on place le ballon bien bouché dans l'étuve à 37° C pendant trois semaines. On constate, après ce laps de temps, une réduction plus abondante de la liqueur de Fehling et une déviation polarimétrique qui s'abaisse jusqu'à — 16 minutes (Nous n'avons pas pu doser avec précision les sucres réducteurs par suite de la faible quantité de matière première).

Ce retour de la déviation vers la droite accompagné d'une augmentation des sucres réducteurs est caractéristique des β glucosides.

4) Hydrolyse acide.

On dissout 0,50 g de glucoside, dans 25 ml. d'eau distillée auxquels on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. On porte à la température du bain-marie bouillant pendant une heure. La solution devient jaune, un résidu brun adhère aux parois du ballon.

Ce précipité est recueilli; il est insoluble dans l'eau mais il est soluble dans l'alcool et dans une solution aqueuse alcaline, ce qui indique la présence d'une fonction phénolique. En solution alcoolique, il donne une coloration verdâtre avec le perchlorure de fer.

La solution jaune est neutralisée puis évaporée à sec; le résidu obtenu est épuisé par de l'alcool à 95° à chaud, puis après une nouvelle évaporation, il est repris par un peu d'eau distillée. L'osazone obtenue par addition de phenylhydrazine est caractéristique de la glucosazone.

D) Conclusion.

Les essais biochimiques nous laissaient entrevoir la présence de l'oleuropoeoside de BOURQUELOT et VINTILESCO dans les amandons. Les caractères du glucoside que nous avons extrait et purifié concordent suffisamment avec ceux donnés par les différents auteurs pour permettre de confirmer cette hypothèse.

5.° CONCLUSION GÉNÉRALE CONCERNANT LES GLUCIDES DES DIFFÉRENTS TOURTEAUX.

En résumé, la composition glucidique des amandons est la suivante: — des traces de glucose et de fructose libres.

— 10 % environ exprimé en sucre interverti de saccharose ou d'un polyholoside de poids moléculaire plus élevé,

— une petite quantité d'oleuropoeoside qu'il est impossible de calculer avec précision d'après la quantité de sucre réducteur apparue par hydrolyse enzymatique, puisque l'action de l'émulsine n'est pas limitée au seul hétéroside.

Le tourteau d'extraction par l'éther de pétrole contient la totalité des glucides des amandons. Le tourteau d'extraction par l'éthanol n'en contient plus qu'une faible proportion sans qu'une discrimination puisse être faite entre les divers composés glucidiques. Le tourteau d'extraction par l'acétone est privé de l'hétéroside; qui est soluble dans ce solvant, il contient par contre une notable proportion d'holosides.

CHAPITRE 3

ETUDE PARTICULIERE DES PROTIDES

LEUR COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS

Nous avons indiqué déjà que la richesse en protides n'était pas une condition suffisante pour qu'un tourteau soit apprécié. Toutes les protéines n'ont pas, en effet, la même valeur alimentaire, celle-ci dépend de la nature et des proportions des acides aminés qu'elles contiennent (77).

Les besoins azotés des animaux sont de deux sortes: les uns sont indifférenciés c'est-à-dire qu'ils peuvent être couverts par toute substance azotée non toxique, l'azote apporté étant utilisé pour la synthèse de molécules complexes (édification des protéines tissulaires par exemple). L'organisme animal a besoin également de certaines molécules azotées qu'il ne peut pas synthétiser et qui doivent être apportées par l'alimentation. Ce sont les acides aminés indispensables; leur présence dans les aliments naturels en détermine l'efficacité nutritive.

Les aminoacides essentiels sont au nombre de dix (5): leucine, isoleucine, valine, thréonine, lysine, méthionine, phénylalanine, tryptophane, arginine et histidine. On peut y ajouter la tyrosine qui, par sa structure voisine de celle de la phénylalanine, peut remplacer cet aminoacide, et la cystine qui joue le même rôle vis-à-vis de la méthionine.

Un aliment protidique sera d'autant plus recherché que sa composition en acides essentiels sera plus proche de celle des protides tissulaires et plus particulièrement de celle des protides de l'oeuf, choisis comme élément de référence (67).

Ces considérations générales nous ont amenée à étudier successivement les méthodes d'extraction des protéines à partir des différents tourteaux, à déterminer les conditions d'hydrolyse et à identifier les acides aminés constituant les hydrolysats obtenus.

1.° EXTRACTION DES PROTÉINES.

On utilise la propriété que possèdent les protéines d'être solubles dans les solutions alcalines faibles ou les solutions d'électrolytes de concentration et de pH déterminés. A partir de ce principe, les conditions opératoires ont été fixées pour l'extraction des protéines de la graine d'arachide par M. MACHEBOEUF et F. TAYEAU (58). La farine d'arachide déshuilée est agitée pendant deux heures avec six à huit fois son poids d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 6 % ajustée au pH 7,5 par la quantité nécessaire de soude normale. La solution obtenue contient, outre les

substances protidiques, des impuretés constituées surtout par des sucres. Pour éliminer ces impuretés sans dénaturer les protéines, on acidifie la solution par de l'acide chlorhydrique jusqu'à un pH voisin de 4,4. Les protides précipitent tandis que les sels minéraux et les sucres restent en solution.

Tout récemment et lorsque notre travail était déjà en voie de rédaction, une étude de l'Institut des Corps Gras de Séville indiquait les conditions de solubilité et de précipitation des protéines de trois variétés d'amandon d'olive (34). L'auteur utilise une solution diluée de soude ou mieux, une solution tampon citrate-phosphate; le minimum de solubilité se situe entre pH 5,4 et 5,7, la meilleure solubilisation ayant lieu pour un pH alcalin (8,1). Une précipitation au pH de 3,6 à 4,9 permet de récupérer 70 à 80 % de l'azote extrait. Nous sommes heureuse de constater l'accord étroit qui se manifeste entre ces indications et nos propres observations. D'une manière générale, nous avons appliqué la méthode de M. MACHE-BOEUF en modifiant quelque peu les conditions de pH pour les adapter aux propriétés particulières des protéines d'amandon.

1) *Tourteau d'extraction par l'acétone.*

2 g. de tourteau dégraissé et très finement pulvérisé sont introduits dans un ballon avec 200 ml. d'une solution de chlorure de sodium à 6 % ajustée par de la soude normale à pH 8. On soumet le ballon et son contenu à une agitation mécanique pendant deux heures à la température du laboratoire (20° C environ), puis on centrifuge et on filtre la liqueur surnageante. Le culot de centrifugation est épuisé une deuxième fois dans les mêmes conditions par 200 ml. de solution saline. Les solutions protéiniques opalescentes sont acidifiées par une solution normale d'acide chlorhydrique jusqu'au pH 5,7. L'expérience a montré que si l'on abaissait davantage le pH, les protéines étaient partiellement dénaturées et ne pouvaient plus être remises en solution.

Le précipité protéinique recueilli par centrifugation est soumis à une purification: pour ce faire, on le remet en solution dans 100 ml. d'eau salée par broyage dans un mortier suivi d'une agitation mécanique pendant trente minutes. On centrifuge et on précipite une nouvelle fois les protéines de la solution au pH 5. Après dessiccation dans un dessiccateur à vide, les protéines se présentent comme une poudre jaune grisâtre.

2) *Tourteau d'extraction par l'éther de pétrole.*

Des essais répétés ont montré qu'il était impossible d'appliquer directement cette méthode au tourteau d'extraction par l'éther de pétrole. Les protéines sont, en effet, difficilement solubles et des centrifugations répétées ne permettent aucune séparation. Nous avons pensé que ce phénomène était dû à la présence en proportion élevée de substances hydrosolubles non azotées et notamment de sucres qu'il serait préférable d'éliminer au préalable. Pour cela, le tourteau a d'abord été mis à macérer dans de l'alcool à 60° pendant trois heures à la température du laboratoire. Après filtration et dessiccation du résidu dans l'étuve à une température inférieure à 40° C., les protéines ont été extraites sans difficulté selon la

méthode habituelle. La poudre obtenue est de couleur blanche. Le soluté alcoolique de macération laisse après distillation un résidu exempt d'azote et réduisant fortement la liqueur de Fehling après hydrolyse acide.

3) *Tourteau d'extraction par l'éthanol.*

Une solution saline ne dissout pas les protéines du tourteau d'extraction par l'alcool car elles ont été dénaturées pendant l'extraction des lipides. La solution d'épuisement ne contient, en effet, que des traces d'azote, et il ne se produit aucune précipitation par acidification. Dans l'impossibilité d'extraire les protéines par ce procédé, nous avons opéré de façon inverse en enrichissant le plus possible le tourteau en substances azotées. Une fois rigoureusement privé de lipides par l'action de l'éther de pétrole dans un appareil de Soxhlet, ce tourteau a été traité à plusieurs reprises par de l'eau chaude. Le résidu séché dans l'étuve se présente sous l'aspect d'une poudre dont on opère l'hydrolyse dans les mêmes conditions que pour les protéines.

2.° RÉACTIONS DIRECTES D'IDENTIFICATION DES ACIDES AMINES.

Quelques réactions de coloration ont été appliquées à des solutions aqueuses de protéines (74).

a) *Réaction xanthoprotéique.*

L'addition d'acide nitrique à la solution provoque l'apparition d'une coloration jaune caractéristique des acides aminés contenant un cycle dans leur molécule (tyrosine, histidine, tryptophane).

b) *Réaction de Millon.*

On chauffe la solution protéique avec une solution de nitrate mercurique dans l'acide nitrique dilué. Un précipité rouge brique indique la présence de dérivés phénoliques (tyrosine).

c) *Réaction d'Adamkiewicz, modifiée par Hopkins et Cole.*

On obtient une coloration violette caractéristique du tryptophane en ajoutant à la solution protéique des traces d'aldéhyde formique et de l'acide sulfurique concentré.

d) *Recherche des acides aminés soufrés.*

On alcalinise la solution avec de la soude et on fait bouillir en présence de quelques gouttes d'acétate de plomb. L'apparition d'un précipité noir de sulfure de plomb caractérise les acides aminés soufrés (méthionine et cystine).

Toutes ces réactions appliquées aux protéines des différents tourteaux

d'amandon ont été positives, elles démontrent la complexité de leur composition.

3.° HYDROLYSE DES PROTÉINES.

L'hydrolyse acide ou alcaline des protéines conduit au terme le plus simple, c'est-à-dire aux acides aminés. On choisit l'une de ces méthodes en tenant compte de la stabilité ou de la fragilité des aminoacides en fonction du pH. Si la plupart d'entre eux sont résistants quel que soit le milieu (arginine, histidine, lysine, leucine, valine, alanine, acides glutamique et aspartique), les acides aromatiques sont au contraire détruits par l'hydrolyse acide (tryptophane, tyrosine, phénylalanine). Les aminoacides hydroxylés (sérine, thréonine) ne sont pas stables en milieu alcalin, de même que les acides aminés soufrés (cystine et méthionine). Ces derniers sont aussi partiellement décomposés si l'hydrolyse acide est menée en présence d'hydrates de carbone (7).

En tenant compte de ces remarques, tous les échantillons à analyser (protéines pures ou tourteau enrichi) ont été soumis successivement à deux méthodes d'hydrolyse (56).

1. *Hydrolyse acide.*

5 à 20 mg. de protéines contenant 0,75 à 3 mg. d'azote sont introduits dans un tube de verre avec 1 ml. d'HCl pur à 20 %. On scelle le tube et on le laisse dans une étuve réglée à 130° C pendant une nuit (ou 24 heures à 100° C). Les tubes sont ouverts après refroidissement et leur contenu est versé dans un petit cristalliseur placé dans un dessiccateur à vide en présence de potasse.

Les acides aminés du résidu sec sont alors repris par de l'acétone chlorhydrique qui ne dissout pas les sels minéraux qui pourraient avoir une action défavorable sur le développement du chromatogramme (9). On laisse le résidu en contact avec 8 ml. de solvant pendant deux heures (*). Puis on centrifuge et la solution acétonique est évaporée dans l'étuve à 37° C. Le résidu est dissous dans 1 ml. d'eau distillée, la solution obtenue servira pour la chromatographie.

2. *Hydrolyse alcaline.*

Pour la mise en évidence des acides aminés aromatiques.

5 à 10 mg. de protéines sont hydrolysés par 1 ml. de solution aqueuse de baryte saturée à chaud, pendant 24 heures à 110° C. On ouvre les tubes et on ajoute la quantité nécessaire d'acide sulfurique 2 N pour amener le pH à 6. On centrifuge et on lave le précipité de sulfate de baryum par deux fois 1 ml. d'eau chaude. Les solutions aqueuses sont évaporées à sec dans un dessiccateur à vide et le résidu est repris par 1 ml. d'eau distillée pour l'analyse chromatographique.

4.° CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER DES ACIDES AMINES.

La chromatographie de partage sur papier de CONSDEN, GORDON et MAR-

(*) Acétone chlorhydrique: 1 ml d'HCl 10 N pour 100 ml d'acétone récemment distillée.

TIN (23) consiste à faire monter ou descendre un ou plusieurs solvants le long d'une feuille de papier spécial sur laquelle on a déposé une goutte de la solution du mélange à étudier. Il y a partage des différents constituants du mélange entre la phase mobile (solvant) et la phase fixe (feuille de papier saturée d'eau). Chaque substance est caractérisée par son Rf qui est défini par le rapport:

$$\frac{\text{distance parcourue par la substance (front de la tache)}}{\text{distance parcourue par le solvant.}}$$

Nous avons utilisé la chromatographie bidimensionnelle descendante. Une goutte de la solution à étudier est déposée près d'un angle de la feuille de papier. On laisse descendre le premier solvant, puis après avoir séché la feuille, on la tourne de 90° et on laisse descendre le deuxième solvant dans une direction perpendiculaire à la première. Un révélateur permet de colorer les taches que l'on peut ensuite identifier par leur situation topographique sur la feuille, si l'on dispose de produits purs comme référence.

A) *Mode opératoire.*

Préparation des solvants.

1ère dimension (72).

Le mélange destiné au développement de la première dimension a été proposé par PARTRIDGE. Il contient du butanol normal, de l'acide acétique et de l'eau distillée dans les proportions relatives de 4, 1 et 5.

On opère le mélange des trois produits et on agite dans une ampoule à décanter. La couche supérieure est introduite dans la gouttière située à la partie supérieure de la cuve, et la couche inférieure est transvasée dans de petits vases placés au fond de la cuve afin de saturer l'atmosphère.

2ème dimension (53).

On utilise cette fois le "phénol-tampon phosphate citrate" qui est obtenu comme il suit: 100 ml. de phénol fondu au bain-marie sont agités avec 20 ml. d'un mélange à parties égales de citrate de sodium (12,6 g. pour 100 ml. d'eau distillée) et de phosphate monopotassique (7,4 g. dans 100 ml. d'eau). Ces deux solutions sont conservées séparément et versées successivement dans le phénol. On laisse décanter l'excès d'eau et l'on recueille la couche supérieure que l'on place dans la gouttière après l'avoir filtrée sur du papier pour la rendre limpide. L'excès d'eau est placé dans le fond de la cuve.

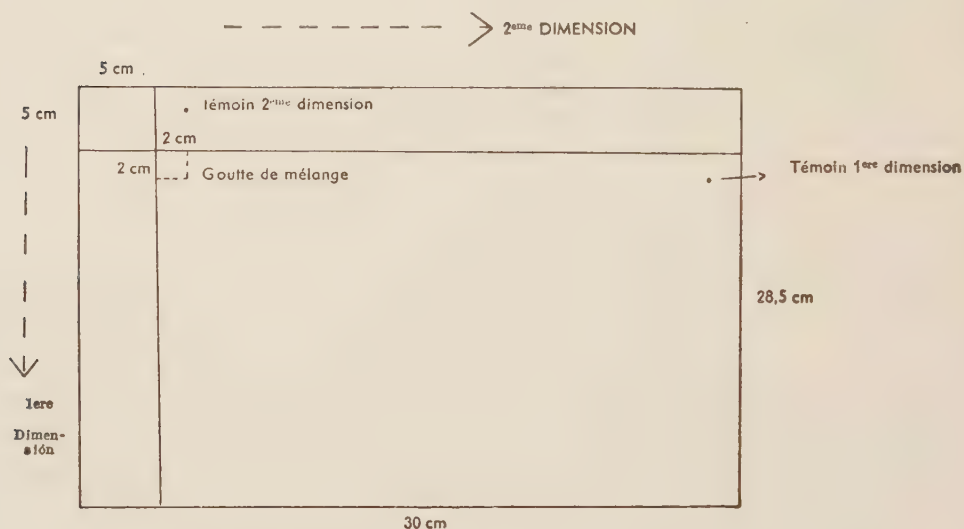
Révélateur.

Le révélateur est constitué par une solution de ninhydrine dans le bu-

tanol normal saturé d'eau (250 mg. pour 100 ml.). On conserve le réactif en flacon de verre foncé, bien bouché.

Préparation du chromatogramme.

On utilise du papier Whatman n° 1. On applique dans un coin du chromatogramme 20 mm³ de la solution à analyser par fractions de 5 mm³ en faisant sécher au moyen d'air chaud après chaque application. Les conditions opératoires jouant un rôle important si l'on veut une méthode d'analyse fidèle, nous avons pris soin de préparer les chromatogrammes de façon rigoureusement identique et selon le schéma suivant:



Développement du chromatogramme (37).

La première dimension est développée pendant trois heures à température voisine de 22° C, puis on sèche à l'air pendant une nuit, ou à l'étuve à 40° C pendant une heure.

Le chromatogramme est ensuite soumis à une rotation de 90° et on procède au développement de la deuxième dimension. Le front du solvant (phénol) arrive au bas de la feuille après huit heures. On sèche pendant 24 heures à l'étuve à 70° sous un léger courant d'air. Puis, on vaporise, régulièrement la solution de ninhydrine au moyen d'un pulvérisateur et on expose pendant un quart d'heure dans l'étuve à 80°. Les taches apparaissent colorées en violet.

Des essais témoins dans les deux dimensions ont permis de déterminer les Rf de tous les acides aminés. On a déposé de plus, sur chaque chromatogramme de tourteau, un ou plusieurs témoins (*).

Cas particulier concernant la méthionine.

La méthionine est confondue sur les chromatogrammes avec la valine

(*) Amino Acid Standard Shandon Solutions 0,01 M dans l'alcool isopropylique à 10 %.

dont il est difficile de la distinguer. Pour permettre néanmoins son identification, on l'oxyde préalablement par de l'eau oxygénée en méthionine sulfone dont le Rf, différent de celui de la valine, devient caractéristique (71). Les chromatogrammes sont préparés en double, l'un d'eux étant traité de la façon suivante: on dépose successivement sur la feuille 10 mm³ d'eau oxygénée à 30 volumes, 20 mm³ de la solution à étudier, une solution à 0,1 % de molybdate d'ammonium, enfin, de nouveau, de l'eau oxygénée. On développe ensuite le chromatogramme selon le mode habituel.

B) *Les résultats obtenus* (36).

1. On n'observe aucune différence dans la composition en acides aminés des protides des tourteaux extraits par les différents solvants: alcool, acétone, éther de pétrole. Les chromatogrammes ont un aspect rigoureusement identique et les mêmes acides aminés ont été identifiés.

2. Les résultats sont les mêmes si l'on extrait les protides par la méthode de MACHIEBOEUF ou si l'on hydrolyse le tourteau directement après l'avoir privé des lipides et des glucides.

3. *Composition en acides aminés.*

a) *hydrolyse acide*: les acides aminés suivants ont été identifiés.

Arginine.....	}	acides aminés indispensables.
Thréonine.....		
Leucine et isoleucine.....		
Valine.....		
Tyrosine.....		
Lysine.....		
β alanine.....		
Acide aspartique.....		
Acide glutamique.....		

b) *hydrolyse alcaline.*

En plus des amino-acides déjà cités, on a pu caractériser le tryptophane et la phénylalanine.

c) Parmi les acides aminés indispensables qui n'ont jamais pu être caractérisés, se trouvent l'histidine et les acides soufrés (méthionine et cystine). La présence de ces derniers était pourtant indiquée par la réaction au sulfure de plomb effectuée directement sur les protéines isolées. Au contraire, la même réaction est négative avec l'hydrolysât d'acides aminés. N'existant dans l'amandon qu'en faible quantité, ces amino-acides ont sans doute été détruits lors de l'hydrolyse, leur décomposition étant favorisée par la présence de traces d'hydrates de carbone. Quant à l'histidine, son absence n'est pas absolument certaine car il est assez difficile de distinguer cet aminoacide de l'arginine dont le Rf est voisin.

4. *Comparaison avec les amino-acides des protéines d'arachide.*

Afin de comparer la composition des protides d'amandon à celle des tourteaux oléagineux habituellement utilisés pour l'alimentation, nous avons été amenée à considérer les protéines de la graine d'arachide dont

la teneur en acides aminés est bien connue. Les protéines extraites d'un tourteau d'arachide déshuilé par de l'éther de pétrole selon la méthode de M. MACHEBOEUF ont été soumises successivement à une hydrolyse acide et à une hydrolyse alcaline. Les hydrolysats ont été ensuite chromatographiés en respectant les mêmes conditions opératoires que pour les amino-acides d'amandon.

L'aspect des chromatogrammes d'arachide est qualitativement identique à celui des chromatogrammes d'amandon. Au point de vue quantitatif il ne semble pas se manifester de différences marquées et on retrouve la même carence en méthionine.

Il en résulte que si le tourteau d'amandon devait être utilisé comme unique source de protides alimentaires, il devrait être complété par l'addition de méthionine et peut-être d'histidine. Les principes de la supplémentation sont, en effet, bien connus et l'association de tourteaux dont les compositions se complètent est fréquemment utilisée. Il est indispensable pour cela de doser les acides aminés, le travail énorme que représentent ces mesures ne peut entrer dans le cadre de cette étude.

On peut, cependant, affirmer d'ores et déjà que, grâce à leur richesse en protides et à leur composition en acides aminés, les tourteaux d'amandon extraits par l'éther de pétrole, par l'acétone et surtout par l'éthanol se trouvent en bonne place parmi les tourteaux utilisables pour l'alimentation humaine et animale.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le souci d'obtenir des huiles d'olive vierges d'acidité très faible avec des rendements importants a conduit les oléiculteurs à remplacer la pression hydraulique classique par des méthodes physiques d'extraction reposant sur la rupture de l'émulsion d'huile et d'eau contenue dans le mésocarpe des olives. Certaines d'entre elles supposent un dénoyautage précédant la délipidation du mésocarpe, et le problème se trouve ainsi posé de l'utilisation la plus avantageuse d'un sous-produit correspondant à un tonnage relativement important. Jusqu'à présent, l'emploi des noyaux se limitait à la production de force motrice. Cependant, le noyau contient une amande, dénommée amandon, riche en huile encore peu étudiée, et vis-à-vis de laquelle une controverse s'est instituée depuis l'antiquité romaine. Certains auteurs ont, en effet, avancé que la pâte d'olive, lorsqu'elle résulte du concassage et du malaxage des fruits complets, fournit à la pression une huile de mauvaise conservation en raison de la présence dans l'huile de mésocarpe de l'huile d'amandon. Un double problème se posait donc quant à la valeur comestible des huiles d'olive classiques et quant aux caractères des huiles d'amandon elles-mêmes.

Notre étude a porté sur des olives de la variété Chemlali. La première partie du travail a été consacrée à une description morphologique et histologique du noyau et de son amande.

La seconde partie concerne l'extraction et l'examen des lipides. L'amandon contient 36 à 39 % d'une huile jaune, d'odeur et de saveur agréables, fluide même à basse température, pauvre en glycérides saturés. Ses caractéristiques la rapprochent de l'huile de mésocarpe dont elle se distingue pourtant par une viscosité moins élevée et un point de congélation plus bas. Elle est riche en matières insaponifiables, notamment en squalène.

Le mode de préparation joue un grand rôle dans la stabilité de l'huile d'amandon, ainsi que nous l'avons montré en utilisant comme matières premières des poudres plus ou moins riches en débris de coques de noyaux; il paraît, en effet, indispensable de séparer totalement les amandons de l'endocarpe qui les entoure. Ce dernier adsorbe des traces de lipides provenant du mésocarpe, leur oxydation est rapide même si le stockage n'est pas prolongé et l'huile obtenue présente une couleur verte et une acidité élevée qui la rendent impropre à la consommation. Le problème de cette séparation des coques et des amandons est actuellement résolu sur le plan industriel puisqu'un procédé mécanique permet l'obtention d'amandons entiers ne contenant pas plus de 3 % de débris de coques.

Parmi les procédés de délipidation, la pression et l'extraction par solvants s'offraient à nous. La détermination des caractères organoleptiques, la mesure de l'acidité et l'examen de l'état d'oxydation des huiles obtenues

par ces différentes méthodes permettent de tirer les conclusions suivantes: les huiles de pression hydraulique et les huiles de pression continue sont comparables aux meilleures huiles d'olive vierges. Elles ne s'altèrent pas rapidement et elles peuvent prendre place parmi les huiles de grande valeur alimentaire. L'huile résiduelle, qui représente 25 à 30 % des lipides totaux, peut être extraite par de l'acétone ou par de l'éthanol à 96°, ces deux solvants fournissant des huiles peu acides et dont les caractères sont voisins de ceux des huiles de pression. L'éther de pétrole ou le trichloréthylène donnent des huiles plus acides et plus oxydées, mais utilisables cependant comme huiles de second choix.

Nous avons enfin établi les relations étroites qui lient les huiles d'amandon aux huiles de noyaux et d'amandes de Rosacées, mettant ainsi en évidence leurs possibilités d'utilisation pharmaceutique et cosmétologique.

Dans la troisième partie, nous nous sommes consacrée, à l'étude de la composition des tourteaux obtenus après délipidation totale des amandons par les différents procédés, en nous attachant spécialement à déterminer leur teneur en glucides et en protides. Les tourteaux d'extraction par l'éther de pétrole, par l'acétone, et par l'éthanol contiennent respectivement 18 %, 9,4 % et 1,5 % de matières glucidiques, et 36,4 %, 43,1 % et 51 % de protides, Ils peuvent prendre place, semble-t-il, parmi les aliments du bétail de valeur nutritive élevée.

L'analyse des amandons a permis d'isoler un hétéroside amer identique à l'oleuropoeoside que BOURQUELOT et VINTILESCO avaient caractérisé dans les feuilles et les rameaux d'olivier, ainsi que dans le mésocarpe des olives. Absent des tourteaux délipidés par l'alcool et par l'acétone, cet hétéroside se retrouve dans le tourteau issu du traitement des amandons par l'essence "B". Il est accompagné d'un holoside non réducteur que nous n'avons pas pu identifier avec certitude; il s'agit sans doute de saccharose associé à un principe immédiat dont la nature n'a pu être encore élucidée. Ses proportions varient selon le solvant utilisé: il est insoluble dans l'éther de pétrole; l'éthanol le dissout presque totalement, mais l'acétone ne l'élimine que partiellement du tourteau.

Pour fixer avec précision la valeur alimentaire d'un tourteau, il est nécessaire de connaître non seulement la teneur en azote total mais encore la composition de ses protéines en amino-acides. Après avoir extrait et purifié les protéines de trois tourteaux délipidés par l'alcool, l'acétone et l'éther de pétrole, nous les avons soumises à des hydrolyses acides et alcalines, et nous avons identifié les acides aminés des hydrolysats obtenus par chromatographie descendante bidimensionnelle sur papier Whatman. Les compositions des trois tourteaux sont identiques; les acides aminés suivants ont été caractérisés:

— *aminoacides dits indispensables*: arginine, thréonine, leucine, isoleucine, valine, tyrosine, lysine, tryptophane, phénylalanine.

— *autres aminoacides*: alanine, acides aspartique et glutamique.

Cette répartition en aminoacides est voisine de celle des protéines d'arachide. Elle permet d'envisager en principe l'utilisation des tourteaux d'amandon pour l'alimentation humaine et animale si on lui associe des substances riches en histidine et en méthionine. Il resterait, cependant, à

se livrer au dosage des différents acides aminés, mais cette étude sortait du cadre de la présente recherche et nous devrons, à l'occasion, nous y consacrer spécialement.

Le bilan énergétique des amandons s'établit donc ainsi :

- 36 à 39 % d'huile
- 10 % de matières glucidiques
- 21 % environ de protides.

Il suffit à montrer la valeur alimentaire des amandons d'olive et à souligner l'intérêt d'une matière première qui résulte des progrès récemment accomplis dans une industrie restée pendant si longtemps traditionnelle. Il faut, cependant, souligner que l'entrée du tourteau dans l'alimentation humaine ou animale suppose une élimination préalable de l'oleuropoeoside dont l'amertume est très accentuée (tourteau d'extraction par l'alcool ou l'acétone, tourteau de pression ou d'extraction par l'essence "B" épuisé ultérieurement par l'éthanol). Mais l'extrait alcoolique convenablement traité peut céder l'oleuropoeoside dans un état de pureté assez satisfaisant pour que l'on puisse envisager son utilisation pharmacodynamique, concurremment à celle de l'oleuropoeoside extrait des feuilles d'olivier et d'usage devenu classique en thérapeutique.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- 1.—ANDRÉ, E., et MARTIN, G.: *Contribution à l'étude des constituants de quelques huiles végétales d'origine métropolitaine.*—Bull. Soc. chim., 1947, 14, M. 217.
- 2.—BECKEL, A. C.: *The non distillation alcohol extraction process for Soybean Oil.*—J. am. Oil Chem. Soc., 1948, 25, 10-11.
- 3.—BERNARD: *Mémoire pour servir à l'histoire naturelle de Provence*, in 8°, Paris, 1788, T. 2.
- 4.—BIEBER: *Zeitschr. analyt. Chem.*, 1878, 74, 264, d'après *Handbuch der Lebensmittel Chemie*, T. 4, p. 475.
- 5.—BLAIZOT, P.: *Les aminoacides.*—Oléagineux, 1957, 12, n° 12, p. 745.
- 6.—BLAIZOT, P., et POLIAKOFF, J.: *Les tourteaux et leurs protides.*—Oléagineux, 1959, 14, n° 1, p. 39-46.
- 7.—BLOCK, R. J., et BOLLING, D.: *The Amino Acid Composition of Proteins and Foods.* 2ème édition, Thomas, Springfield, 1947.
- 8.—BONNET, J.: *L'extraction de l'Huile d'Olive par le procédé Acapulco.*—Bull. des Matières Grasses de l'Institut Colonial, Marseille, 1928, n° 9 et 10, p. 219-223.
- 9.—BOULANGER, P., et BISERTE, G.: *Chromatographie de partage des aminoacides libres du plasma sanguin.*—Bull. Soc. Chim. biol., 1949, 31, 696-702.
- 10.—BOURQUELOT, E.: *Recherche dans les végétaux du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine.*—J. Pharm. Chim., 1901 (6), 14, 481. C. R. Acad. Sci., 1901, 133, 690.
- 11.—BOURQUELOT, E.: *Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoire. II. Enzymes hydratants. Hydratases.*—J. Pharm. Chim., 1907 (6), 25, 16.
- 12.—BOURQUELOT, E., et VINTILESCO, J.: *Sur l'Oleuropeïne, nouveau principe de nature glucosidique retiré de l'olivier.*—C. R. Acad. Sci., 1908, 147, 533. J. Pharm. Chim., 1908 (6), 28, 303.
- 13.—BOURQUELOT, E., et VINTILESCO, J.: *Sur les variations de proportions d'oleuropeïne dans l'olive depuis son apparition jusqu'à sa maturité.*—J. Pharm. Chim., 1911 (7), 3, 1-13.
- 14.—BRANDONISIO, V.: *La composizione dell'olio delle mandorle di olive*, L'Olivicoltore Palazzo Margherita, via Vittorio-Veneto.—Roma, octobre 1935, p. 16-18.
- 15.—BREVET FRANÇAIS: N° 677.247, 24 juin 1924, Paris, Société Minami Manshu Tetsudu Kabushiki Kaisha (Chine).
- 16.—BREVET FRANÇAIS: N° 609.842, 1926, Etablissements Rocca, Tassy et De Roux.
- 17.—BUCHMANN, E.; RENAUDET, P., et BAGOT, Y.: *Le procédé Westfalia-Enfida.* Oléagineux, 1959, 14, n° 2, p. 95-104.
- 18.—BUCHMANN, E.: *La production des huiles d'olive en oléfaction Westfalia-Enfida continue et automatique.*—Informations Oléicoles Internationales. 1959, Nouvelle Série, n° 5, p. 74-91.
- 19.—"Bulletin d'Etalonnage", fourni par la Société "Le Pyrex", n° 5564E, K 0,00499.
- 20.—CARLES, J.: *Microdosage colorimétrique du phosphore.*—Bull. Soc. Chim. biol., 1956, 38, 255-57.
- 21.—CHEVREUL: *Recherches chimiques sur les corps gras d'origine animale.*—Paris, 1823, p. 280.
- 22.—COLLIN, E., et PERROT, Em.: *Les Résidus Industriels utilisés par l'Agriculture comme Aliments et comme Engrais.*—A. Joanin, Paris, 1904, p. 254-258.
- 23.—CONSDEN, R.; GORDON, A. M., et MARTIN, A. J. P.: *Biochem. J.*, 1944, 38, 224.
- 24.—CONSEIL, P.: *Recherche et dosage des lactosuries et des petites glycosuries.*—Thèse Doct. Pharm. Nancy, 1938.

- 25.—CORNEVIN: *Des résidus industriels dans l'alimentation du bétail.*—Paris, 1892.
- 26.—COURTOIS, J. E.; WICKSTROM, A.; FLEURY, P., et LE DIZET, P.: *Etude des galactosides du glucose dérivant des galactosides du saccharose isolés du bouillon blanc.* Bull. Soc. Chim. biol., 1955, 37, 1009.
- 27.—CRUESS, W. V., et ALSBERG, C. L.: *The bitter glucoside of the olive.*—J. amer. chem. Soc., 1934, 56, 2115-2117.
- 28.—DANIEL-BRUNET, A., et OLIVIERO, M.: *Principes de la feuille d'olivier et leur action physiologique.*—Bull. Acad. Médecine, 1939, 122, n.° 28, p. 191.
- 29.—D'AYGAILLIERS, F.: *L'Olivier et l'Huile d'Olive.*—Un volume in 8.° J. B. Baillière, Paris, 1900.
- 30.—DEMAY, J.: *Amélioration de la technique d'extraction de l'huile d'olive par un procédé Acapulco perfectionné.* Oléagineux.—1956, 11, n.° 2, p. 95-102.
- 31.—DEMAY, J.: *Mise au point d'un procédé industriel de décorticage des noyaux d'olives et de séparation des amandons.*—Oléagineux, 1959, 14, n.° 4, p. 243-246.
- 32.—DE MINGO, M., y ROMERO, J. M.: *Estudio químico-analítico del aceite de huesos de aceituna.*—Rev. de la Real Acad. de Cienc. Ex. Fis. y Nat. (Madrid). 1953, 47, 557-585.
- 33.—FAUVE, M.: *Détermination de l'humidité des graines oléagineuses par séchage au moyen des infra-rouge.*—Bulletin d'Information de l'Iterg, 1949, 3, n.° 9, p. 323.
- 34.—FERNÁNDEZ DÍEZ, M. J.: *Las proteínas de la semilla de aceitunas.*—Grasas y Aceites. 1960, 11, p. 19-25.
- 35.—FRANÇOIS, M.—Th., et HEINRICH, S.: *Caractères des huiles d'amandon d'olive obtenues par différents procédés.*—C. R. Acad. Sci., 1958, 247, 222-225.
- 36.—FRANÇOIS, M.—Th., et HEINRICH, S.: *Composition en aminoacides des protides des tourteaux d'amandon d'olive extraits par différents solvants.*—C. R. Acad. Sci., 1960, 251, 275-276.
- 37.—GIDDEY, C.: *La chromatographie sur papier des acides aminés urinaires et sanguins.*—Schweizerische Medizinische Wochenschrift, 1953, 83, n.° 14.
- 38.—GUILLEMET, R., et JACQUOT, R.: C. R. Acad. Sci., 1943, 216, 508.
- 39.—GORIS, A., et LIOT, A.: *Pharmacie Galénique.*—Masson. Paris, 1942, T. I. p. 382.
- 40.—GORIS, A., et LIOT, A.: Id. p. 209.
- 41.—GUILLOT, J.: *Recherches sur l'absorption ultra-violette de certaines huiles végétales en fonction de leur traitement industriel.*—Ann. falsif. et fraudes, 1935, 14ème année, n.° 314, p. 69.
- 42.—*Handbuch der Lebensmittel Chemie.*—Springer, Berlin, 1939. T. 4, p. 473.
- 43.—HERISSEY, H.: *Recherche sur l'émulsine.*—Thèse Doc. Pharm., Paris, 1899.
- 44.—HERISSEY, H., FLEURY P., WICKSTROM, A. COURTOIS, J. E., et LE DIZET, P.: *Isolement de cinq galactosides du saccharose des racines de bouillon blanc.*—Bull Soc. Chim. biol., 1954, 36, 1507.
- 45.—HERISSEY, H.: *Sur une technique permettant l'extraction facile de certains hétérosides.*—Journ. Pharm. et Chim., 1932 (8), 16, 513.
- 46.—HOLMAN, R. T., et ELMER, O. C.: *The Rates of Oxydation of Unsaturated Fatty Acids and Esters.*—J. am. Oil Chem. Soc., 1947, 24, 127.
- 47.—JACQUOT, R., MERAT, P., et PHILIPPART, M. J.: *Les Tourteaux alimentaires*, Monographie de l'Iterg.—1949.
- 48.—JACQUOT, R., ADRIAN, J., et MERAT, A.: *Influence de la nature des solvants d'extraction sur la valeur alimentaire des tourteaux.*—Revue française des Corps gras, 1958, 5, n.° 1, p. 3.
- 49.—JARDON, P.: *Contribution à l'étude chimique et pharmacodynamique de la feuille d'olivier*, Thèse Doct. Univ. Pharm. Lyon, 1942.
- 50.—JUILLET, A., SUSPLUGAS, J., et COURP, J.: *Les Oléagineux et leur Tourteaux*, Encyclopédie Biologique, T. 49, Lechevalier, Paris, 1955, p. 547-48.
- 51.—KANDILIS, J. D., et KARNIS, N. S.: *Über die Konstanten der griechischen Olivenkernöle.*—Praktika 4-273, d'après Chem. Zbl. 1933, 1.
- 52.—KHANGY, A. K.: *Contribution à l'étude de l'extraction de l'huile de lin par les solvants organiques notamment par l'alcool.*—Thèse Sc. Paris, 1954.
- 53.—KIRBY BERRY, H., et CAIN, L.: Arch. Biochem. 1949, 24, 179; d'après LEDERER, E. et M., Chromatography, 2ème édition, Elsevier, London, 1957.

- 54.—LEA, C. H.: J. Soc. Chem. Ind., 1946, 65, 286; d'après KAUFMANN, M. P.: *Analyse der Fette und Fettprodukte*, Springer, Berlin, 1958, T. 2, p. 1293.
- 55.—LEVY DI LÉON, N.: *Scourtins métalliques Weiss*.—Première Conférence Internationale des Techniciens Oléicoles, Tanger mai 1958.
- 56.—LINSKENS, H. F.: *Papierchromatographie in der Botanik*.—Springer, Berlin, 1955, p. 106.
- 57.—LOURY, M.: *Etude comparative de l'acétone hydratée et de divers solvants pour l'extraction des graines d'arachide*.—Revue française des Corps gras. 1956, 3, n.º 2, p. 93-104.
- 58.—MACHEBOEUF, M., et TAYEAU, F.: *Les protéines de la graine d'arachide*.—Bull. Soc. Chim. biol., 1942, 24, 260-286.
- 59.—MAYOLLE, J.: *Recherches sur l'extraction par solvants*.—Bulletin d'Information de l'Iterg, 1952, 6, n.º 2, p. 96-101.
- 60.—"Méthodes Unifiées Internationales 5 A".—Normes françaises N. F., T. 60, 204.
- 61.—"Méthodes Unifiées Internationales 10 A".—Normes françaises N. F. T. 60, 206.
- 62.—"Méthodes Unifiées Internationales 8 A".
- 63.—"Méthodes Unifiées Internationales 11 A".—Normes françaises N. F. T. 60, 203.
- 64.—"Méthodes Unifiées Internationales 6 A".
- 65.—"Méthodes Unifiées Internationales 1 B".
- 66.—MEUNIER, A.: *Contribution à l'étude des glucides de quelques espèces indigènes du genre Lathyrus*.—Thèse Doct. ès sciences, Nancy, 1933.
- 67.—MITCHEL, H. H., et BLOCK, R. J.: J. biol. Chem., 1946, 163, 599.
- 68.—MOELLER, J.: *Mikroskopie der Nahrungs- und Genussmittel aus dem Pflanzenreiche*. Springer, Berlin, 1928, p. 263-264, fig. 378.
- 69.—"Normes américaines A. O. C. S.". Cc 6,25.
- 70.—"Normes françaises T. 60", 210.
- 71.—PARRY, T. E.: *Paper Chromatography of 56 Amino compounds using phenol and butanol acetic acid as solvents*.—Clinica Chimica Acta, 1952, volume 2, 115-125.
- 72.—PARTRIDGE, S. M.: Biochem. J., 1948, 42, 238.
- 73.—PLINE livre VII, chapitre 57; livre XV, chap. 1,3; livre XVII, chap. 11, 12, 18, 24; livre XVIII, chap. 28; CATON: chap. 43, 45, 64, 65; De re rustica, chap. 117, 118, 119, 144; COLUMELLE: livre V, chap. 7,9; livre XI, chap. 2; livre XII, chap. 50; VARRON: livre I, chap. 55; VIRGILE: Géorgiques, livre II.
- 74.—POLONOVSKI, M.; BOULANGER, P.; MACHEBOEUF, M., et ROCHE, J.: *Biochimie médicale*.—Masson, Paris, 1952.
- 75.—POWER, F. B., et TUTIN, F.: Pharm., J., 1908, 81, 714.
- 76.—"Rapport de l'Union Internationale de Chimie pure appliquée". *Détermination du phosphore de l'huile de lin*.—Bruxelles, 7 mars 1957.
- 77.—ROCHE, J., et MICHEL, R.: *Sur la valeur alimentaire des protéines des tourteaux*.—Oléagineux, 1946, 1, n.º 4, p. 205.
- 78.—ROUSSEAU, P. M.: *Le pressurage des pâtes d'olive aux presses à haute pression en Tunisie*.—2ème Conférence des Techniciens Oléicoles de France et d'Afrique du Nord, Marseille, 1956.
- 79.—ABBÉ ROZIER: *Cours Complet d'Agriculture*.—12 volumes in 4.º, Paris, 1787, pages 532-593.
- 80.—RUBY, J.: *Recherches morphologiques et biologiques sur l'olivier et sur ses variétés cultivées en France*.—Thèse Doct. Sc. Nat., Paris, 1918.
- 81.—SALVATORE, CASTORINA: *Extraction de l'huile d'olive au moyen de l'électrophorèse*. Olearia, 1956, 10, p. 82 et 188-191.
- 82.—TANRET, C.: *Sur la présence du stachyose dans le haricot et les graines de quelques autres Légumineuses*.—Bull. Soc. chim., 1913 (4), 13, 176; C. R. Acad. Sci., 1912, 155, 1526.
- 83.—TSCHIRCH, A.: *Handbuch der Pharmakognosie*.—H. Tauchnitz. Leipzig, 1912, 1ère partie, T. 2, p. 622.
- 84.—UZZAN, A.: *Influence du dénoyautage des olives sur la qualité de l'huile obtenue*. 1ère Conférence Internationale des Techniciens Oléicoles, Tanger, mai 1958.
- 85.—VIEUX, A. S.: *De l'extraction de l'huile de germes de maïs par les solvants organiques usuels notamment par l'éthanol et le traitement au moyen de ce solvant par le procédé liquide-liquide d'une huile brute*.—Thèse Sc., Paris, 1959.

- 86.—WOLFF, G., et WOLFF, J. P.: *Documents d'Analyse chimique. II. Méthodes d'analyse et de contrôle industriel des Matières Grasses.*—Dunod, Paris, 1953, p. 46.
- 87.—WOLFF, G., et WOLFF, J. P.: Id. p. 109.
- 88.—WOLFF, G., et WOLFF, J. P.: Id., p. 107.—A. O. A. C. 6ème édition, 1945, 443:
- 89.—WOLFF, J. P.: *Etude spectrophotométrique du rancissement des huiles.*—Revue française des Corps gras, 1954, 1, n.° 4, p. 214-226.
- 90.—WOLFF, J. P.: *Etude spectrophotométrique ultra-violette des huiles d'olive et des huiles d'amande.*—Revue française des Corps gras, 1956, 3, n.° 1, p. 21.

TABLE DES MATIERES

	Pages
AVANT-PROPOS... ..	1
INTRODUCTION... ..	3

PARTIE I

ORIGINE & DESCRIPTION DE L'AMANDON D'OLIVE

Structure de l'olive... ..	7
Description du noyau... ..	8
Description de la graine... ..	8

PARTIE II

L'HUILE D'AMANDON D'OLIVE

CHAPITRE 1. *Etude bibliographique et Méthodes d'analyse utilisées.*

I. Bibliographie	11
II. Techniques et méthodes utilisées	12

CHAPITRE 2. *Caractères et composition de l'huile d'amandon d'olive extraite par l'éther de pétrole, solvant usuel des lipides.*

I. Méthode d'extraction... ..	16
II. Marche de l'extraction et rendement en huile... ..	17
III. Etude des glycérides... ..	17
IV. Extraction et étude des acides gras provenant de l'hydrolyse des glycérides... ..	18
V. Extraction et études des matières insaponifiables... ..	18
VI. Dosage des phosphoaminolipides dans l'huile... ..	19
VII. Discussion des résultats... ..	19
1. Comparaison avec les huiles espagnoles... ..	19
2. Comparaison avec les huiles d'olive commerciales... ..	20

CHAPITRE 3. *Influence de la matière première.*

<i>Comparaison entre l'huile de noyau d'olive et l'huile d'amandon... ..</i>	21
I. Extraction des huiles... ..	21
II. Caractères des huiles... ..	22
III. Détermination de la matière première à utiliser... ..	23
A. Obtention d'une poudre extractive contenant 60 % d'amandes et 40 % de bois... ..	23

	Pages
B. Poudre d'amandons contenant 10 % de coques... ..	24
C. Séparation industrielle coques-amandons sans pulvérisation.	25
CHAPITRE 4. <i>Les huiles d'amandon extraites par différents procédés...</i>	27
<i>Sous-chapitre I.—Extraction par pression...</i>	27
1. Huiles de pression hydraulique...	27
2. Huiles de pression continue...	29
<i>Sous-chapitre II.—Extraction par solvants...</i>	29
A. Extraction par l'éther de pétrole...	30
B. Extraction par le trichloréthylène...	30
C. Extraction par l'éthanol:	
a) Historique...	31
b) Marche de l'extraction...	31
c) Séparation des différentes phases...	32
d) Lipides neutres et acides. Discussion des résultats...	32
e) Etude de la phase alcoolique délipidée...	33
f) Etude de la phase intermédiaire...	34
D. Extraction par l'acétone:	
1) Marche de l'extraction...	34
2) Discussion des résultats...	35
E. Caractères comparatifs des huiles extraites par les différents solvants...	36
<i>Sous-chapitre III.—Extraction par microbroyage à froid...</i>	36
1) Extraction au moyen d'un bon solvant des lipides...	36
2) Extraction au moyen de deux solvants utilisés successivement.	37
<i>Sous-chapitre IV.—Mise en évidence des composés oxydés dans les huiles extraites par ces différentes méthodes...</i>	38
1) Principe de la méthode spectrophotométrique...	38
2) Mode opératoire...	39
3) Application aux huiles d'amandon...	40
1) Influence du stockage de la matière première...	40
2) Influence des conditions d'extraction...	41
A. Les huiles d'extraction par solvants...	41
B. Les huiles de pression...	43
3) Influence du stockage des huiles...	43
4) Conclusions...	45
CHAPITRE 5. <i>Comparaison des huiles d'amandon et des huiles d'amande et de noyau du Codex...</i>	47

PARTIE III

LES TOURTEAUX

CHAPITRE 1. *Composition globale des tourteaux d'amandon:*

1) Méthodes d'analyse utilisées...	50
2) Caractères généraux des tourteaux obtenus par différents procédés...	52
3) Détermination des différents groupes de principes immédiats constituant les tourteaux...	52
A. Teneur en glucides...	53
B. Teneur en protides...	55
4) Conclusion concernant la valeur alimentaire du tourteau d'amandon...	55

CHAPITRE 2. *Etude particulière des glucides...*

1) Réactions d'identification des sucres...	57
2) Recherche des holosides et des hétérosides par la méthode biochimique de Bourquelot:	
A. Principe de la méthode...	59
B. Techniques et modes opératoires suivis...	60
a) Préparation des enzymes:	
— Invertine...	60
— Emulsine...	61
b) Préparation des solutions sucrées...	61
c) Opérations d'hydrolyse et calcul des indices enzymolytiques	61
C. Les résultats obtenus...	62
D. Interprétation des résultats...	62
3) Tentatives d'extraction du polyholoside...	63
A. Essais directs de cristallisation...	64
B. Méthode d'extraction "A la baryte"...	64
C. Variante de cette méthode...	64
4) Extraction et identification de l'hétéroside:	
A. Etude historique. Caractères et propriétés de l'oleuropaeoside.	65
B. Extraction et purification...	66
C. Identification du glucoside extrait...	66
D. Conclusion...	67
5) Conclusion générale concernant les glucides des différents tourteaux...	67

CHAPITRE 3. <i>Etude particulière des protides. Leur composition en acides aminés...</i>	69
1) Extraction des protéines...	69
1. Tourteau d'extraction par l'acétone...	70
2. Tourteau d'extraction par l'éther de pétrole...	70
3. Tourteau d'extraction par l'éthanol...	71
2) Réaction directes d'identification des acides aminés...	71
3) Hydrolyse des protéines...	72
1. Hydrolyse acide...	72
2. Hydrolyse alcaline...	72
4) Chromatographie sur papier des acides aminés...	72
A. Mode opératoire:	
Préparation des solvants...	73
Révélateur...	73
Préparation du chromatogramme...	74
Développement du chromatogramme...	74
B. Les résultats obtenus...	75
CONCLUSIONS GÉNÉRALES...	77
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE...	83
TABLE DES MATIÈRES...	87

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté.

APPLICATIONS DE LA SPECTROPHOTOMETRIE ULTRA-
VIOLETTE A L'ANALYSE DES CORPS GRAS

Vu,

Nancy, le 8 septembre 1960

Le Président de thèse,

M. Th. FRANÇOIS

Vu et approuvé,

Nancy, le 13 septembre 1960

Le Doyen de la Faculté,

F. KAYSER

Vu et permis d'imprimer

Nancy, le 16 septembre 1960

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

P. IMBS

